

Turnitin Perpustakaan UKI

BIOKIMIA BAWANG PUTIH: Eksplorasi Senyawa Bioaktif dan Mekanisme Antibakteri Pelarut Etanol

 Turnitin Dosen 14
 Turnitin Dosen - Okt
 Universitas Kristen Indonesia

Document Details

Submission ID

trn:oid::1:3684801102

Submission Date

Oct 20, 2026, 9:04 AM GMT+7

Download Date

Oct 20, 2026, 9:16 AM GMT+7

File Name

26-08-111-EBOOK-Biokimia_Bawang_Putih.pdf

File Size

2.6 MB

175 Pages

39,795 Words

273,047 Characters

3% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- Bibliography

Top Sources

- 3%  Internet sources
- 1%  Publications
- 1%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

Top Sources

- 3% Internet sources
- 1% Publications
- 1% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	Internet	repository.bsi.ac.id	<1%
2	Internet	repository.ub.ac.id	<1%
3	Internet	etheses.uin-malang.ac.id	<1%
4	Internet	jurnal.stkipmb.ac.id	<1%
5	Internet	repository.penerbiteurka.com	<1%
6	Internet	repository.stikes-kartrasa.ac.id	<1%
7	Internet	repository.uki.ac.id	<1%
8	Internet	adoc.pub	<1%
9	Internet	vdocuments.mx	<1%
10	Internet	id.scribd.com	<1%
11	Internet	phaidrani.ni.ac.rs	<1%

12	Internet	text-id.123dok.com	<1%
13	Internet	hr.biomedicalhouse.com	<1%
14	Student papers	STIFAR Semarang	<1%
15	Internet	repository.um-surabaya.ac.id	<1%
16	Internet	tiobraman.blogspot.com	<1%
17	Internet	www.scribd.com	<1%
18	Internet	idoc.tips	<1%
19	Internet	idr.uin-antasari.ac.id	<1%
20	Internet	eprints.ums.ac.id	<1%
21	Internet	repository.usd.ac.id	<1%
22	Internet	123dok.com	<1%
23	Student papers	Konsorsium Turnitin Relawan Jurnal Indonesia	<1%
24	Student papers	Universitas Islam Bandung	<1%
25	Publication	Wani Devita Gunardi. "Mekanisme Biomolekuler Pseudomonas aeruginosa dalam..."	<1%

26	Internet	repository.istn.ac.id	<1%
27	Internet	repository.lppm.unila.ac.id	<1%
28	Student papers	FMIPA Universitas Tadulako	<1%
29	Internet	pemula-awaliharimu.blogspot.com	<1%
30	Student papers	Universitas Brawijaya	<1%
31	Student papers	Universitas Islam Riau	<1%
32	Internet	es.scribd.com	<1%
33	Internet	jurnal.umpwr.ac.id	<1%
34	Publication	Yudhie E Prasetyo, Meiske S Sangi, Audy D Wuntu. "PENENTUAN TOTAL FENOLIK ...	<1%
35	Internet	jurnal.batan.go.id	<1%
36	Internet	jurnal.ut.ac.id	<1%
37	Publication	Mahdalena Sy Pakaya, Jihan Astuti Kai, Wiwit Zuriati Uno. "POTENSI EKSTRAK ETA...	<1%
38	Publication	Melia Soniman. "EFEKTIVITAS SENYAWA AKTIF KOMBINASI KENCUR KAEMPFERIA ...	<1%
39	Internet	aguskrisnoblog.wordpress.com	<1%

40	Internet	farmasiapril.blogspot.com	<1%
41	Internet	nitaaquariusblog.blogspot.com	<1%
42	Internet	pt.scribd.com	<1%
43	Internet	sinta.unud.ac.id	<1%
44	Internet	www.coursehero.com	<1%
45	Publication	Amelia anastasya Koni, Ishak Isa, Hamsidar Hasan, La Ode Aman, Wiwit zuriati U...	<1%
46	Publication	Bitha Ariyani, Desy Armalina, Diah A. Purbaningrum. "Pengaruh Konsentrasi Ekst...	<1%
47	Internet	bawanghitamtunggalobatkolestrolalami.blogspot.com	<1%
48	Internet	carano.pustaka.unand.ac.id	<1%
49	Internet	core.ac.uk	<1%
50	Internet	ejournal.iainbukittinggi.ac.id	<1%
51	Internet	farmasi.ulm.ac.id	<1%
52	Internet	fitrirosdiana.blogspot.com	<1%
53	Internet	humaniora.journal.ugm.ac.id	<1%

54	Internet	journal.farmasi.umi.ac.id	<1%
55	Internet	journal.ipb.ac.id	<1%
56	Internet	jurnal.akfarsam.ac.id	<1%
57	Internet	library.stfibp.ac.id	<1%
58	Internet	ocs.unud.ac.id	<1%
59	Internet	pmc.ncbi.nlm.nih.gov	<1%
60	Internet	repository.uin-malang.ac.id	<1%
61	Internet	repository.uph.edu	<1%
62	Internet	sciencebiology.org	<1%
63	Internet	smartlib.umri.ac.id	<1%
64	Internet	t1by.wordpress.com	<1%
65	Internet	thesis.ummy.ac.id	<1%
66	Internet	www.anlene.com	<1%
67	Internet	www.uthm.edu.my	<1%

68	Publication	Agus Hario Muttaqin, Adrian Rifal Djamil, Dalfian Dalfian, Dwi Marlina. "PERBAND...	<1%
69	Publication	Vita A.D Putri, Jimmy Posangi, Edward Nangoy, Robert A. Bara. "Uji daya hambat j...	<1%
70	Publication	Zulhaimi Hendrajid, Yuniasih M. J. Taihuttu, Parningotan Y. Silalahi, Laura B. S. Hu...	<1%
71	Internet	biodiversitas.mipa.uns.ac.id	<1%
72	Internet	bs-agro.com	<1%
73	Internet	cispoldajatim.blogspot.com	<1%
74	Internet	creativenews.id	<1%
75	Internet	docobook.com	<1%
76	Internet	e-journal.unair.ac.id	<1%
77	Internet	eprints.umbjm.ac.id	<1%
78	Internet	garuda.kemdikbud.go.id	<1%
79	Internet	journal.unair.ac.id	<1%
80	Internet	ml.scribd.com	<1%
81	Internet	parboaboa.com	<1%

82	Internet	reposister.almaata.ac.id	<1%
83	Internet	repository.uinjkt.ac.id	<1%
84	Internet	silab.ugm.ac.id	<1%
85	Internet	vinaekaprasetianaa.blogspot.com	<1%
86	Internet	www.anekamakalah.com	<1%
87	Internet	www.repository.karyailmiah.trisakti.ac.id	<1%
88	Internet	www.slideshare.net	<1%
89	Publication	Glorya Sakul, Herny E. I. Simbala, Gerald Rundengan. "UJI DAYA HAMBAT EKSTRA...	<1%
90	Publication	Sarwendah Paramesti, Ratna Sofaria Munir, Pepy Dwi Endraswari. "Perbandingan...	<1%
91	Internet	idoc.pub	<1%
92	Internet	tivachemchem.blogspot.com	<1%

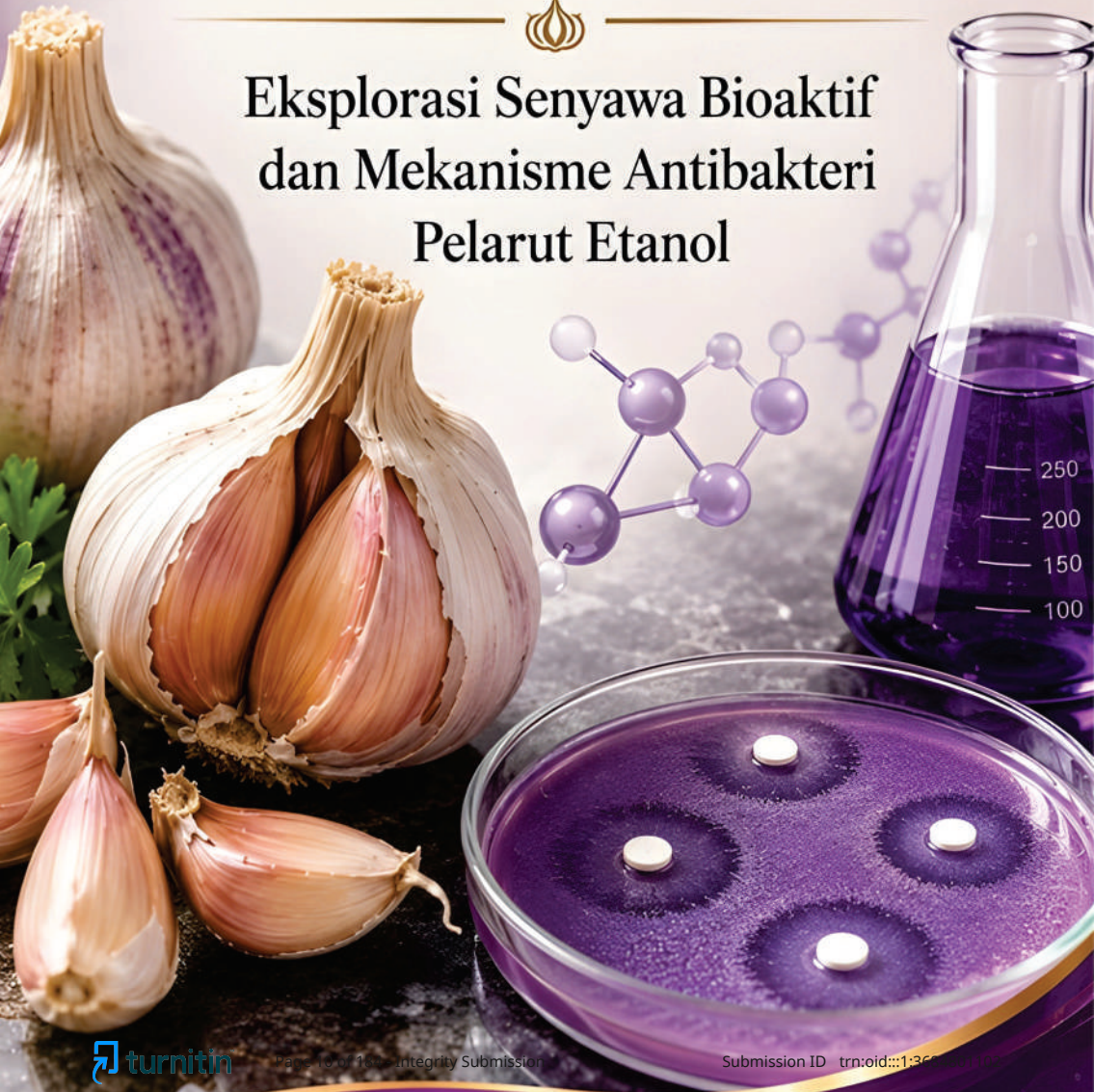


Fri Rahmawati, S. Si, M. Si.

Biokimia Bawang Putih:



Eksplorasi Senyawa Bioaktif
dan Mekanisme Antibakteri
Pelarut Etanol



Biokimia Bawang Putih:

Eksplorasi Senyawa Bioaktif
dan Mekanisme Antibakteri Pelarut Etanol

Krisis resistensi antibiotik global telah berada pada tahap yang mengkhawatirkan. Bakteri patogen berevolusi dengan cepat, melumpuhkan efikasi obat-obatan sintetik komersial, dan mengancam keselamatan peradaban manusia. Dalam Menghadapi tantangan eksistensial ini, eksplorasi bioaktif bahan alam lokal menawarkan strategi alternatif yang paling rasional dan aman. Buku "Biokimia Bawang Putih: Eksplorasi Senyawa Bioaktif dan Mekanisme Antibakteri Pelarut Etanol" menyajikan kajian komprehensif mengenai potensi ilmiah *Allium sativum* sebagai agen antimikroba modern. Penulis mengupas tuntas alasan pemilihan pelarut biner etanol yang terbukti optimal dan selektif dalam mengekstraksi komponen aktif tanaman. Fokus utama buku ini tertuju pada dinamika senyawa organosulfur khususnya alisin beserta turunannya serta kontribusi sinergis dari kelompok non-sulfur seperti flavonoid dan fenolik. Lebih dari sekadar memaparkan hasil uji visual, buku ini menjelaskan secara presisi mekanisme aksi molekuler ekstrak bawang putih dalam melumpuhkan patogen. Pembaca diajak memahami bagaimana senyawa aktif bekerja secara multi-target dengan cara merusak fluiditas membran sel, menghambat enzim esensial melalui reaksi tiolasi, hingga mengganggu replikasi DNA bakteri. Melalui pendekatan biologi molekuler yang sistematis dan data eksperimental yang valid, buku ini meruntuhkan stigma bahwa terapi herbal hanya berbasis mitos. Buku ilmiah ini menjadi referensi krusial bagi para akademisi, peneliti farmasi, dan praktisi medis. Karya ini tidak hanya memperkaya khazanah kedokteran dasar, tetapi juga menyajikan peta jalan legalitas yang jelas bagi hilirisasi riset fitofarmaka demi mewujudkan kedaulatan kesehatan nasional.



0858 5343 1992
eurekamediaaksara@gmail.com
Jl. Banjaran RT.20 RW.10
Bojongsari - Purbalingga 53362



BIOKIMIA BAWANG PUTIH:

Eksplorasi Senyawa Bioaktif

dan Mekanisme Antibakteri Pelarut Etanol

Fri Rahmawati, S. Si, M. Si.

5



PENERBIT CV.EUREKA MEDIA AKSARA

**BIOKIMIA BAWANG PUTIH:
Eksplorasi Senyawa Bioaktif dan Mekanisme Antibakteri
Pelarut Etanol**

Penulis : Fri Rahmawati, S. Si, M. Si.

7

Desain Sampul : Nur Arif Budiman

Tata Letak : Irma Puspitaningrum

ISBN : 978-634-315-690-1

No. HKI : 001522876

1

Diterbitkan oleh : EUREKA MEDIA AKSARA, SEPTEMBER 2026
ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH
NO. 225/JTE/2021

Redaksi:

Jalan Banjaran, Desa Banjaran RT 20 RW 10 Kecamatan Bojongsari
Kabupaten Purbalingga Telp. 0858-5343-1992

Surel : eurekamediaaksara@gmail.com

Cetakan Pertama : 2026

All rights reserved

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat-Nya, buku ilmiah berjudul "Biokimia Bawang Putih: Eksplorasi Senyawa Bioaktif dan Mekanisme Antibakteri Pelarut Etanol" ini dapat diselesaikan. Buku ini disusun sebagai usaha akademis untuk menyajikan kajian ilmiah dan sistematis mengenai potensi biokimiawi bawang putih (*Allium sativum*) sebagai agen antibakteri. Di tengah ancaman krisis resistensi antibiotik global, eksplorasi bahan alam menawarkan penyelesaian yang rasional. Buku ini mengupas secara mendalam proses ekstraksi senyawa bioaktif bawang putih menggunakan pelarut etanol. Lebih daripada itu, buku ini menjelaskan mekanisme molekuler senyawa organosulfur dan flavonoid dalam merusak struktur sel serta menghentikan bioenergetika bakteri patogen berdasarkan data eksperimental yang valid. Penulis menyampaikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada rakan akademisi, institusi laboratorium, dan semua pihak yang telah memberikan sokongan serta sumbangan pemikiran sepanjang penyusunan buku ini. Semoga karya ini dapat memperkayakan khazanah sains, menjadi rujukan bagi penyelidikan lanjutan, serta memberikan sumbangan nyata dalam pembangunan fitofarmaka yang bermutu tinggi.

Jakarta, 1 September 2026

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
BAB 1 PENDAHULUAN DAN URGENSI KAJIAN	
BAHAN ALAM.....	1
A. Pendahuluan dan Urgensi Kajian Bahan Alam.....	1
B. Tantangan Resistensi Antibiotik Global	6
C. Posisi Strategis Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>) dalam Terapi Herbal	12
D. Urgensi Pemilihan Pelarut Etanol dalam Ekstraksi...	18
BAB 2 KARAKTERISTIK BOTANI DAN PROFIL	
FITOKIMIA BAWANG PUTIH.....	23
A. Klasifikasi Taksonomi dan Morfologi <i>Allium</i> <i>sativum</i>	23
B. Komposisi Kimia Makro dan Mikro Nutrien Umbi Bawang Putih	28
C. Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Utama	31
D. Faktor Lingkungan yang Memengaruhi Mutu Kimia Bahan Baku	34
E. Standardisasi Mutu Simplisia Bawang Putih	38
BAB 3 PRINSIP BIOKIMIA EKSTRAKSI DENGAN	
PELARUT ETANOL	43
A. Sifat Fisikokimia Pelarut Etanol.....	43
B. Teori Kelarutan dan Polaritas Senyawa Bioaktif Bawang Putih	47
C. Mekanisme Penetrasi Pelarut dan Lisis Dinding Sel Tanaman	53
D. Perbandingan Etanol dengan Pelarut Polar dan Nonpolar Lain	60
E. Optimalisasi Konsentrasi Etanol untuk Hasil Ekstraksi Maksimal	65
BAB 4 TEKNOLOGI EKSTRAKSI DAN FRAKSINASI	
EKSPERIMENTAL	71
A. Metode Ekstraksi Konvensional: Maserasi dan Perkolasi.....	71

10

B. Metode Ekstraksi Modern: <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i> (UAE) dan <i>Microwave-Assisted Extraction</i> (MAE)	73
C. Parameter Kritis Proses Ekstraksi: Suhu, Waktu, dan Rasio Bahan	76
D. Teknik Fraksinasi untuk Pemisahan Kelompok Senyawa	79
E. Proses Evaporasi dan Pemurnian Ekstrak Etanol	80

87

BAB 5

EKSPLORASI SENYAWA ORGANOSULFUR: ALISIN DAN TURUNANNYA	83
A. Biosintesis Alisin melalui Reaksi Enzimatis Aliinase	83
B. Karakteristik Kimiawi dan Stabilitas Alisin dalam Medium Etanol	85
C. Profil Senyawa Turunan: Ajoene, Vinilditiin, dan Diallyl Sulfide	87
D. Pengaruh Enzimatis versus Termal terhadap Kadar Alisin	89
E. Mekanisme Degradasi Senyawa Organosulfur Volatil	90

BAB 6

PROFIL SENYAWA NON-SULFUR BIOAKTIF DALAM EKSTRAK ETANOL	93
A. Identifikasi Flavonoid dan Senyawa Fenolik Utama	93
B. Keberadaan Saponin dan Profil Glikosida Bawang Putih	95
C. Kandungan Minyak Atsiri Non-Sulfur	97
D. Aktivitas Sinergis antara Senyawa Sulfur dan Non-Sulfur	99
E. Kontribusi Senyawa Fenolik terhadap Kapasitas Antioksidan Ekstrak	101

BAB 7

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BAWANG PUTIH	103
A. Uji Sensitivitas <i>In Vitro</i> : Metode Difusi Cakram dan Sumuran	103
B. Penentuan <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC)	107

79

C.	Penentuan <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC).....	112
D.	Spektrum Aktivitas terhadap Bakteri Gram-Negatif	116
E.	Spektrum Aktivitas terhadap Bakteri Gram-Positif	121
BAB 8	MEKANISME BIOKIMIA DAN SELULER ANTIBAKTERI.....	126
A.	Destruksi Integritas Dinding Sel dan Membran Sitoplasma Bacteria	126
B.	Inhibisi Enzim Sulfhidril melalui Reaksi Tiolasi oleh Alisin	130
C.	Gangguan Sintesis Asam Nukleat dan Replikasi DNA Bakteri	134
D.	Penghambatan Sistem Transpor Elektron dan Produksi ATP	138
E.	Gangguan Komunikasi Antar Sel Bakteri (<i>Quorum Sensing</i>).....	142
BAB 9	PROSPEK FORMULASI, APLIKASI KLINIS, DAN TANTANGAN MASA DEPAN	147
A.	Pengembangan Sediaan Farmasi Berbasis Ekstrak Etanol Bawang Putih	147
B.	Aspek Toksisitas, Keamanan Biologis, dan Uji <i>In Vivo</i>	151
C.	Tantangan Stabilitas Organoleptik dan Kimiawi Produk Formulasi.....	154
D.	Regulasi Standardisasi Ekstrak Bahan Alam di Indonesia	158
	DAFTAR PUSTAKA.....	163
	TENTANG PENULIS	166

BAB 1

PENDAHULUAN DAN URGENSI KAJIAN BAHAN ALAM

A. Pendahuluan dan Urgensi Kajian Bahan Alam



Gambar 1.1 Bahan Kajian : *Allium Stivum* (Bawang Putih)

Penyakit infeksi akibat bakteri patogen tetap menjadi salah satu tantangan terbesar dalam dunia kesehatan masyarakat global pada abad ke-21. Penemuan antibiotik komersial pada pertengahan abad lalu sempat membawa perubahan drastis dalam menurunkan angka mortalitas pasien di berbagai belahan dunia. Namun, keberhasilan masa lalu ini memicu masalah baru berupa ketergantungan yang berlebihan terhadap zat kimia sintetik. Dunia kedokteran saat ini menghadapi krisis global yang dipicu oleh fenomena resistensi antibiotik. Bakteri secara alami memiliki kemampuan beradaptasi dan berevolusi dengan cepat untuk menahan

paparan senyawa obat modern. Situasi tersebut melahirkan istilah bakteri kebal obat yang menuntut tindakan mitigasi klinis dan riset saintifik yang agresif.

Kajian mendalam terhadap bahan alam menjadi salah satu strategi paling rasional untuk memutus rantai krisis resistensi mikroba. Tumbuhan menyediakan perpustakaan kimia yang sangat kaya akan senyawa organik aktif terstruktur unik. Potensi bioaktif yang tersimpan di dalam jaringan tanaman sering melampaui variasi molekul yang dapat dibuat di laboratorium sintesis biasa. Pemanfaatan tumbuhan obat oleh masyarakat tradisional memberikan landasan empiris yang kuat bagi penelitian biomedis modern. Praktik etnofarmakologi masa lalu menjadi petunjuk awal dalam mengidentifikasi spesies tanaman yang memiliki khasiat antimikroba tinggi. Para ilmuwan kini berusaha membuktikan kesahihan khasiat tradisional tersebut menggunakan indikator klinis yang objektif. Urgensi utama dari eksplorasi bahan alam adalah kebutuhan mendesak terhadap agen terapeutik yang aman bagi organ tubuh manusia. Penggunaan antibiotik sintetik dosis tinggi dalam jangka panjang kerap dikaitkan dengan efek samping toksisitas pada ginjal dan hati. Bahan alam menawarkan alternatif terapi dengan profil biokompatibilitas yang jauh lebih ramah terhadap sistem fisiologis pasien.

Senyawa bioaktif asal tumbuhan terbukti memiliki mekanisme kerja yang unik dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri patogen. Berbeda dengan obat sintetik tunggal, ekstrak bahan alam biasanya mengandung kombinasi beberapa kelompok metabolit sekunder secara simultan. Karakteristik multi-komponen senyawa aktif tersebut mempersulit sel bakteri untuk membangun mutasi genetik pelindung yang efektif. Tanaman secara alami menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai bentuk adaptasi pertahanan terhadap ancaman lingkungan sekitarnya. Senyawa-senyawa seperti sulfur, fenolik, flavonoid, dan saponin diproduksi untuk menangkal serangan hama serta infeksi mikroba liar. Manusia kemudian mengisolasi molekul pertahanan alami tumbuhan

untuk dimanfaatkan sebagai zat aktif pembasmi bakteri. Keberhasilan penemuan zat aktif dari bahan alam sangat ditentukan oleh ketepatan metode pemisahan dan ekstraksi di laboratorium. Proses penarikan senyawa bioaktif dari matriks sel tumbuhan memerlukan pemahaman mendalam mengenai sifat fisikokimia komponen target. Kesalahan dalam memilih teknik dan pelarut ekstraksi dapat menyebabkan kehilangan senyawa sensitif sebelum sempat diuji efikasi ekstrak bahan alam tersebut. Eksplorasi potensi flora lokal juga memiliki urgensi strategis dalam mendukung kemandirian bahan baku obat di tingkat nasional. Ketergantungan industri farmasi domestik terhadap bahan baku impor sintetik sering mengancam ketahanan kesehatan saat terjadi krisis global. Optimalisasi pemanfaatan bahan alam lokal merupakan solusi jangka panjang untuk memperkuat kedaulatan medis bangsa.

Pemanfaatan bahan alam secara ilmiah turut mendorong konsep pembangunan berkelanjutan melalui sektor budidaya tanaman obat. Pengembangan industri herbal terstandarisasi memberikan dampak ekonomi positif bagi komunitas petani dan pelestari tanaman lokal. Melalui pendekatan ini, sains tidak hanya menyelesaikan masalah klinis tetapi juga mendukung kelestarian ekosistem. Penemuan obat modern berbasis bahan alam saat ini mengandalkan panduan uji biologi berulang untuk menemukan isolat murni terbaik. Setiap fraksi hasil pemisahan kromatografi dipantau secara ketat untuk melihat kekuatan daya hambatnya terhadap bakteri uji. Metode yang sistematis dapat menjamin bahwa molekul akhir yang didapatkan memiliki afinitas tertinggi pada target seluler mikroba. Tantangan utama yang dihadapi para peneliti bahan alam adalah variabilitas kadar zat aktif yang terdapat dalam simplisia tanaman. Komposisi senyawa metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti kualitas tanah, ketinggian tempat tumbuh, dan curah hujan. Standardisasi budidaya menjadi kunci penting untuk menjamin konsistensi mutu dan efek terapi produk akhir. Teknologi biokimia mutakhir kini mampu memetakan mekanisme aksi molekuler

bahan alam dengan tingkat presisi yang sangat tinggi. Peneliti tidak lagi sekadar mengamati hasil akhir pertumbuhan bakteri melainkan dapat melacak jalur transduksi sinyal seluler yang terganggu. Kejelasan data mekanistik diharapkan mampu meningkatkan penerimaan ilmiah dari kalangan praktisi medis konvensional.

Senyawa murni yang diisolasi dari bahan alam juga sering kali dijadikan sebagai kerangka dasar untuk pengembangan obat semi-sintetik. Ahli kimia dapat memodifikasi gugus fungsi tertentu pada molekul alami guna meningkatkan daya hambat serta kelarutannya di dalam cairan tubuh. Pendekatan hibrida ini menggabungkan keunggulan struktur alami tanaman dengan teknologi rekayasa kimia modern. Fenomena sinergisme antara ekstrak tanaman dan antibiotik standar saat ini menjadi fokus riset yang sangat menjanjikan. Beberapa senyawa bahan alam diketahui bertindak sebagai pelumpuh sistem pertahanan pompa efluks pada dinding sel bakteri. Ketika sistem pertahanan bakteri tersebut lumpuh, antibiotik konvensional dapat masuk kembali dan bekerja menghancurkan patogen secara optimal.

Pergeseran gaya hidup masyarakat modern yang semakin menyukai produk kesehatan organik ikut meningkatkan urgensi kajian bahan alam. Konsumen kini cenderung menghindari konsumsi obat-obatan sintetik jangka panjang karena kekhawatiran atas akumulasi residu kimiawi. Bahan alam memberikan rasa aman secara psikologis sekaligus bukti efikasi yang dapat dipertanggungjawabkan. Secara finansial, proses penemuan antibiotik sintetik baru membutuhkan investasi modal yang sangat besar serta waktu riset yang panjang. Banyak industri farmasi raksasa mulai mengurangi anggaran riset antimikroba baru akibat tingginya risiko kegagalan di fase uji klinis. Skrining bahan alam menawarkan efisiensi waktu karena dipandu oleh rekam jejak keamanan penggunaan pada manusia. Eksplorasi bahan alam tidak lagi terbatas pada flora daratan tetapi kini mulai merambah kekayaan biota laut yang sangat melimpah. Organisme laut seperti spons dan alga hidup dalam

61 kondisi lingkungan ekstrem yang menuntut mereka memproduksi metabolisme unik. Potensi kimia laut ini membuka peluang ditemukannya struktur molekul antimikroba baru yang belum pernah diidentifikasi sebelumnya.

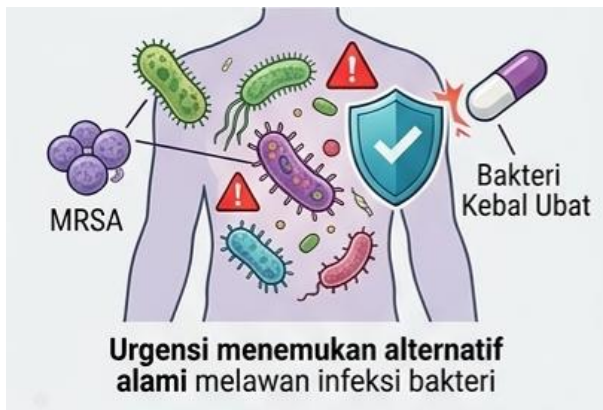
Kejelasan regulasi mengenai kategori sediaan herbal seperti Jamu, Obat Herbal Terstandar, dan Fitofarmaka memberikan kepastian hukum yang kuat. Regulasi yang ketat memacu para peneliti untuk menyajikan data toksisitas dan efikasi yang valid melalui serangkaian uji laboratorium yang ketat. Hal tersebut memotong stigma bahwa pengobatan bahan alam hanya berdasarkan mitos tanpa dasar ilmiah. Penerapan teknologi nanopartikel dalam sistem penghantaran obat berhasil mengatasi kelemahan fisikokimia yang sering ditemukan pada ekstrak tumbuhan. Senyawa alam yang memiliki sifat tidak stabil atau sulit larut dapat dilindungi melalui teknik enkapsulasi nanopartikel. Inovasi nanoteknologi memastikan zat aktif bawang putih atau bahan alam lainnya dapat mencapai target tanpa rusak di saluran cerna. Struktur kimia unik dari senyawa alam menginspirasi pengembangan metode penapisan berbasis komputer atau simulasi penambatan molekul (*molecule docking*). *Molekul docking* memetakan interaksi tiga dimensi antara ligan alami dengan protein bakteri, sehingga potensi aktivitas dapat diprediksi secara cepat. Efisiensi berbasis teknologi digital dapat meminimalkan pemborosan *reagen* kimia yang mahal di laboratorium. Kajian bahan alam juga memegang peran krusial dalam mendokumentasikan serta melestarikan pengetahuan medis lokal milik masyarakat adat. Perlindungan hak kekayaan intelektual komunal sangat penting agar tidak ada penyalahgunaan kekayaan pengetahuan tradisional. Pengembangan produk komersial harus berjalan seiring dengan pembagian keuntungan yang adil bagi komunitas lokal. Standardisasi senyawa penanda atau *marker* dalam ekstrak tanaman menjadi instrumen utama dalam menjaga kontrol kualitas produk di pasaran. Keberadaan senyawa penanda memastikan tidak terdapat praktik pemalsuan atau pencampuran bahan kimia obat berbahaya (Bahan Kimia

74

Obat/BKO) ke dalam produk herbal. Kontrol kualitas yang disiplin mengangkat kredibilitas industri obat berbahan alam ke tingkat global.

Integrasi ilmu bahan alam ke dalam kurikulum pendidikan tinggi kedokteran dan farmasi sangat penting untuk membangun pemahaman yang selaras. Generasi baru tenaga kesehatan perlu dibekali dengan data ilmiah biokimia agar dapat memberikan penilaian objektif terhadap terapi herbal. Pendidikan berbasis bukti ilmiah menjadi jembatan utama untuk menyatukan metode konvensional dan tradisional. Kajian bahan alam pada akhirnya bukan sekadar sebuah pilihan alternatif melainkan sebuah urgensi masa depan demi menjaga keberlanjutan kesehatan manusia. Pengabaian terhadap potensi besar biokimia yang disediakan oleh alam sama saja dengan menutup peluang penemuan solusi atas berbagai krisis penyakit baru. Kolaborasi multidisiplin yang erat menjadi kunci utama untuk mengubah potensi bahan alam menjadi sediaan farmasi yang presisi.

B. Tantangan Resistensi Antibiotik Global



Gambar 1.2 Tantangan Resistensi Antibiotik Global

Fenomena resistensi antibiotik global saat ini telah bermutasi menjadi salah satu ancaman paling menakutkan bagi keberlangsungan sistem kesehatan masyarakat di seluruh dunia. Penemuan penisilin dan gelombang antibiotik komersial pada

pertengahan abad ke-20 sempat memberikan rasa aman yang semu bagi peradaban manusia modern. Namun, efikasi obat-obatan ajaib tersebut kini mengalami penurunan yang sangat drastik akibat kemampuan adaptasi sel mikroba yang luar biasa cepat. Komunitas medis internasional secara konsisten memberikan peringatan keras mengenai potensi terjadinya era pasca-antibiotik dalam beberapa dekade mendatang. Pada era tersebut, infeksi bakteri ringan yang awalnya mudah disembuhkan dapat kembali menjadi penyebab kematian yang mematikan. Krisis kemunduran efikasi medis antibiotik bukan lagi sekadar prediksi teoretis, melainkan realitas klinis harian yang dihadapi di berbagai ruang perawatan intensif rumah sakit.

Bakteri patogen menunjukkan kecerdasan evolusioner yang konstan dalam menetralkan molekul obat sintetik. Bakteri membangun berbagai benteng pertahanan biokimia, mulai dari modifikasi sisi target obat, pembentukan enzim hidrolitik penonaktif, hingga rekayasa penurunan permeabilitas membran sel. Setiap industri farmasi meluncurkan struktur antibiotik baru, populasi bakteri hanya membutuhkan waktu singkat untuk menemukan celah genetik guna melawan antibiotik tersebut. Salah satu manifestasi paling berbahaya dari krisis resistensi antibiotik adalah kemunculan bakteri multiresisten yang dikenal secara luas sebagai kelompok *superbugs*. Bakteri-bakteri seperti *Staphylococcus aureus* rintangan metisilin (MRSA) dan enterobakteria rintangan karbapenem kini tidak lagi merespon intervensi terapi antibiotik lini pertama maupun kedua. Infeksi yang dipicu oleh kelompok bakteri tersebut memaksa klinisi untuk menggunakan regimen obat pilihan terakhir yang sering kali sangat toksik bagi pasien.

Penyebaran gen resistensi antar-spesies bakteri berlangsung secara masif melalui mekanisme pemindahan gen horizontal di berbagai ekosistem. Bakteri menggunakan konjugasi, transduksi, dan transformasi untuk saling berbagi plasmid pembawa sifat kebal obat, bahkan dengan spesies bakteri non-patogen. Proses pertukaran informasi genetik yang

tak terkendali dapat mempercepat penyebaran sifat resistensi dari satu belahan bumi ke belahan bumi lainnya dalam hitungan minggu. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional oleh sektor medis di tingkat hulu menjadi motor penggerak utama pembentukan tekanan selektif pada mikroba. Praktik preskripsi yang tidak tepat, seperti pemberian antibiotik untuk penyakit flu yang disebabkan oleh virus, memicu paparan zat aktif yang tidak perlu pada mikrobiota normal tubuh. Sehingga bakteri non-patogen di dalam tubuh manusia justru terstimulasi untuk melatih sistem kekebalan mekanis mereka sendiri.

Perilaku pasien di tingkat hilir turut memperparah kompleksitas masalah resistensi akibat rendahnya kepatuhan dalam menyelesaikan regimen terapi yang diwajibkan. Penghentian konsumsi antibiotik secara sepihak sesaat setelah gejala klinis mereda memberikan peluang emas bagi populasi bakteri yang tersisa untuk beradaptasi. Sisa bakteri yang tidak mati tersebut kemudian bermutasi menjadi galur baru yang jauh lebih kuat dan resisten terhadap dosis obat yang sama. Sektor peternakan dan akuakultur komersial berskala besar berkontribusi signifikan terhadap akumulasi resistensi global. Industri peternakan menggunakan antibiotik secara masif sebagai zat penggalak pertumbuhan atau agen profilaksis massal untuk mencegah penularan penyakit di kandang yang padat. Paparan antibiotik dosis rendah yang terus-menerus pada hewan ternak menciptakan inkubator alami bagi lahirnya galur-galur bakteri baru yang kebal.

Limbah biologis dari aktivitas peternakan serta sisa metabolisme obat yang tidak terurai dengan sempurna dapat menyebabkan pencemaran sistem drainase dan tanah di lingkungan sekitar. Lingkungan perairan yang terkontaminasi residu antibiotik bertindak sebagai tempat seleksi alam bebas bagi komunitas bakteri lingkungan. Bakteri air dan tanah yang awalnya tidak berbahaya secara klinis dapat mengadopsi sifat kebal, lalu memindahkannya ke bakteri patogen manusia. Tantangan resistensi antibiotik global juga membawa implikasi ekonomi yang sangat berat bagi stabilitas finansial sistem

jaminan kesehatan nasional. Pasien yang menderita infeksi bakteri resisten membutuhkan durasi rawat inap yang jauh lebih lama di rumah sakit demi pemantauan intensif. Kondisi ini secara otomatis meningkatkan biaya penggunaan fasilitas medis, kebutuhan pemeriksaan laboratorium sekunder, serta beban kerja tenaga medis.

Selain memperpanjang masa perawatan, pengobatan infeksi rintangan menuntut penggunaan obat-obatan antibiotik lini ketiga yang memiliki harga jual sangat tinggi di pasaran. Ketersediaan obat-obatan alternatif tersebut sangat terbatas dan tidak selalu dapat diakses oleh fasilitas kesehatan di daerah terpencil atau negara berkembang. Ketimpangan terhadap akses obat alternatif menyebabkan angka kematian karena bakteri resisten terkonsentrasi lebih tinggi pada wilayah dengan tingkat ekonomi rendah. Krisis ekonomi akibat resistensi bakteri diproyeksikan dapat menurunkan produk domestik bruto global secara signifikan jika tidak segera ditangani secara sistematis. Penurunan produktivitas tenaga kerja terjadi karena pekerja membutuhkan waktu pemulihan yang jauh lebih lama atau mengalami kecacatan permanen akibat komplikasi infeksi. Kerugian ekonomi makro menjadi bukti kuat bahwa tantangan resistensi bukan sekadar masalah teknis di dalam laboratorium biologi.

Ironisnya, di tengah lonjakan kasus infeksi kebal obat, lini produksi dan penemuan antibiotik baru oleh korporasi farmasi global justru mengalami stagnasi parah. Pengembangan satu entitas kimia antibakteri baru membutuhkan investasi kapital mencapai miliaran dolar dengan waktu pengujian klinis hingga belasan tahun. Angka kegagalan yang tinggi pada fase uji coba membuat banyak investor mengalihkan modal mereka ke sektor obat penyakit kronis. Industri farmasi menilai bahwa antibiotik tidak lagi menjadi komoditas bisnis yang menguntungkan karena masa penggunaannya yang relatif singkat pada pasien. Berbeda dengan obat diabetes atau hipertensi yang dikonsumsi seumur hidup, antibiotik hanya diminum dalam hitungan hari atau minggu. Ketidakseimbangan antara biaya riset yang masif

dan potensi keuntungan yang rendah menyebabkan terjadi kekosongan inovasi antibakteri sintetis baru.

Kekosongan inovasi riset pencarian dan pengembangan antibiotik, diperparah oleh pembatasan penggunaan antibiotik baru yang sangat ketat oleh otoritas pengawas obat sedunia. Ketika sebuah antibiotik baru berhasil ditemukan, komunitas medis akan menyimpannya sebagai obat pilihan terakhir guna mencegah terjadinya resistensi dini. Kebijakan pembatasan volume penjualan obat tersebut semakin menurunkan minat komersial perusahaan farmasi untuk mendanai riset molekul sintetis baru. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) telah mengklasifikasikan resistensi antimikroba sebagai salah satu dari sepuluh ancaman kesehatan masyarakat global paling kritis yang dihadapi manusia. WHO menyerukan implementasi rencana aksi global yang terpadu guna memperlambat laju mutasi mikroba melalui pengawasan ketat. Namun, koordinasi regulasi antar-negara sering kali terhambat oleh perbedaan prioritas politik dan keterbatasan infrastruktur laboratorium di lapangan. Kegagalan dalam mengendalikan laju resistensi dapat mengancam keberhasilan berbagai prosedur medis modern lainnya yang sangat bergantung pada efektivitas antibiotik. Operasi bedah mayor, transplantasi organ, hingga terapi kemoterapi kanker memiliki risiko komplikasi infeksi sekunder yang sangat tinggi. Jika antibiotik profilaksis kehilangan fungsinya, tindakan medis penyelamat nyawa tersebut menjadi terlalu berbahaya untuk dilakukan.

Dunia medis juga menghadapi tantangan besar dari kemampuan bakteri untuk membentuk struktur biofilm pelindung di atas jaringan tubuh maupun alat medis. Biofilm merupakan koloni bakteri yang diselubungi oleh matriks polimer ekstraseluler yang tebal dan lengket. Struktur pelindung bakteri tersebut mampu menghalangi penetrasi molekul antibiotik konvensional hingga seribu kali lipat lebih efektif dibandingkan dengan sel bakteri bebas. Di area pelayanan klinis, keterbatasan fasilitas diagnosis cepat menjadi kendala utama bagi penerapan terapi antibiotik yang presisi dan bijaksana. Dokter sering kali

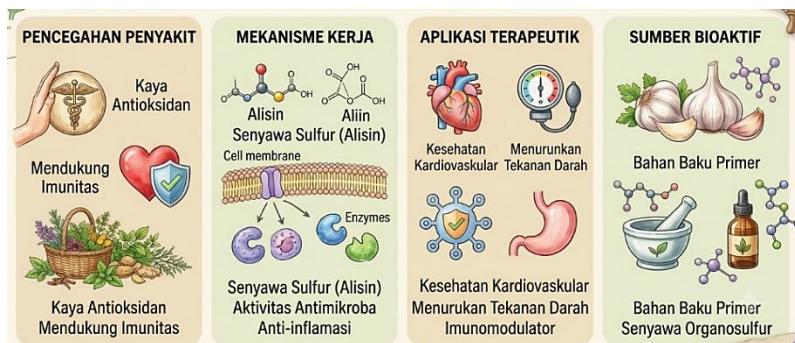
terpaksa meresepkan antibiotik spektrum luas secara empiris sebelum hasil uji kultur laboratorium keluar beberapa hari kemudian. Penggunaan antibiotik spektrum luas yang tidak spesifik mempercepat eliminasi bakteri sensitif dan menyisakan bakteri rintangan untuk berkembang biak. Upaya edukasi publik mengenai bahaya konsumsi antibiotik tanpa resep dokter masih menghadapi tembok besar berupa kemudahan akses pembelian mandiri di pasar ilegal. Di banyak negara berkembang, regulasi penjualan obat keras masih lemah sehingga masyarakat dapat membeli antibiotik secara bebas di apotek kecil atau warung konvensional. Pemahaman publik yang kurang dapat membuat antibiotik sering dianggap setara dengan obat pereda nyeri biasa.

Tantangan terkait pengetahuan publik yang kurang menuntut perubahan paradigma riset global dari modifikasi struktur sintetik menjadi eksplorasi agen pembasmi alternatif. Peneliti mulai menyadari bahwa pendekatan tunggal menggunakan satu jenis molekul kimia murni sudah tidak lagi efektif untuk melawan kecerdasan bakteri. Strategi riset mutakhir kini diarahkan untuk menemukan senyawa yang mampu melumpuhkan sistem virulensi bakteri tanpa harus membunuh bakteri patogen secara langsung. Pendekatan non-lethal tersebut dinilai lebih aman karena tidak memberikan tekanan selektif yang ekstrem pada bakteri, sehingga memperkecil peluang terjadi mutasi baru. Salah satu target molekuler yang disasar adalah penghambatan sistem komunikasi antar-sel bakteri atau dikenal sebagai *quorum sensing*. Pemutusan komunikasi antar sel bakteri, menyebabkan bakteri kehilangan kemampuan untuk mengkoordinasikan serangan infeksi atau membentuk struktur biofilm pelindung. Integrasi konsep kesehatan terpadu atau *One Health* menjadi urgensi mutlak yang harus diterapkan untuk menyelesaikan akar masalah resistensi secara holistik. Pendekatan *One Health* menyatukan keahlian para pakar kedokteran manusia, kedokteran hewan, ilmu lingkungan, dan pembuat kebijakan dalam satu jaringan pengawasan terintegrasi. Intervensi yang

hanya berfokus pada sektor kesehatan manusia dipastikan akan gagal jika sektor lingkungan dan peternakan tetap mengalirkan residu antibiotik.

Dalam konteks krisis global kajian terhadap potensi biokimia bahan alam lokal menemukan posisi urgensi tertingginya sebagai kandidat solusi masa depan. Kompleksitas struktur molekul alami yang diproduksi oleh tanaman menawarkan mekanisme aksi baru yang tidak dapat dikenali oleh sistem pertahanan bakteri rintangan. Kekayaan hayati lokal menyimpan jawaban atas keterbatasan opsi terapeutik sintetik yang saat ini dialami oleh dunia medis konvensional. Sehingga tantangan resistensi antibiotik global bukan sekadar masalah sains murni di laboratorium, melainkan krisis eksistensial yang mengancam keselamatan masa depan peradaban manusia. Pengabaian terhadap kecepatan evolusi bakteri sama saja dengan membiarkan runtuhnya benteng pertahanan medis yang telah dibangun selama satu abad terakhir. Kolaborasi multidisiplin yang agresif dan eksplorasi radikal terhadap sumber daya alam baru menjadi satu-satunya jalan keluar untuk memenangkan perang biokimia melawan mikroba patogen.

C. Posisi Strategis Bawang Putih (*Allium sativum*) dalam Terapi Herbal



Gambar 1.3 Infografis Biokimia Bawang Putih: Dari Sumber Bioaktif hingga Aplikasi Klinis

Bawang putih atau *Allium sativum* menduduki posisi yang sangat strategis dalam sistem pengobatan herba tradisional maupun modern di berbagai belahan dunia. Sejak ribuan tahun lalu, peradaban besar seperti Mesir kuno, Yunani, Roma, dan China telah mendokumentasikan umbi ini sebagai agen terapeutik utama untuk memulihkan stamina serta menyembuhkan berbagai penyakit infeksi. Catatan sejarah yang panjang bukan sekadar mitos, melainkan sebuah indikasi awal yang kuat mengenai aktivitas biokimiawi yang luar biasa di dalam umbi tersebut.

Karakteristik utama yang membuat bawang putih sangat unggul dalam terapi herba adalah kemampuan bawang putih bertindak sebagai pabrik kimia alami yang memproduksi ratusan senyawa bioaktif. Saat jaringan umbi bawang putih masih utuh, tanaman ini menyimpan senyawa prekursor tak aktif yang bernama aliin di dalam sitoplasma. Keunikan struktur kimia umbi bawang putih tersebut menjaga kestabilan zat aktif dan tidak menguap atau rusak selama masa pertumbuhan tanaman di ladang. Ketika umbi bawang putih mengalami kerusakan fisik akibat dipotong, dihancurkan, atau dikunyah, sebuah reaksi enzimatik yang sangat cepat akan segera terjadi. Enzim alinase yang semula tersimpan terpisah di dalam vakuola sel akan keluar dan langsung berinteraksi dengan aliin. Reaksi hidrolisis dan kondensasi molekuler yang spontan menghasilkan sebatian organosulfur volatil yang bernama alisin, yaitu zat utama yang bertanggungjawab atas aroma tajam sekaligus daya antibakteri bawang putih.

Peneliti dan para ilmuwan menaruh perhatian yang sangat besar pada alisin karena molekul tersebut memiliki reaktivitas biologis yang sangat tinggi terhadap sel bakteri patogen. Alisin mampu menembus dinding sel mikroba dengan cepat karena bersifat cenderung lipofilik. Ketika berada di dalam sitoplasma bakteri, alisin langsung menyerang gugus tiol pada asam amino penyusun protein esensial dan melumpuhkan metabolisme mikroba secara instan.

Selain alisin, proses pemrosesan dan ekstraksi bawang putih juga menghasilkan berbagai senyawa turunan sulfur sekunder yang memiliki tingkat stabilitas lebih tinggi. Senyawa-senyawa seperti ajoene, vinilditiin, diallyl sulfide, diallyl disulfide, dan diallyl trisulfide terbentuk secara bertahap seiring dengan perubahan lingkungan pelarut. Kehadiran multi-komponen sulfur tersebut memastikan bahwa ekstrak bawang putih tetap memiliki khasiat medis yang kuat meski telah melewati berbagai proses pengolahan fisik.

Fleksibilitas profil kimia bawang putih juga didukung oleh keberadaan kelompok senyawa non-sulfur yang tidak kalah penting bagi kesehatan manusia. Umbi bawang putih mengandung senyawa golongan flavonoid, fenolik, saponin, dan glikosida yang cukup tinggi di dalam matriks sel bawang putih. Sinergisme biokimia antara kelompok senyawa sulfur dan non-sulfur membuat aktivitas terapi bawang putih menjadi sangat luas dan berlapis.

Posisi strategis *Allium sativum* dalam dunia kedokteran herba semakin diperkuat oleh spektrum aktivitas antimikroba yang sangat luas terhadap berbagai jenis patogen. Uji laboratorium membuktikan bahwa ekstrak bawang putih mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus aureus* sekaligus bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli*. Kemampuan penghambatan terhadap kedua kelompok bakteri dengan struktur dinding sel yang berbeda ini jarang dimiliki oleh tanaman obat lain.

Keunggulan lain dari bawang putih adalah kemampuannya dalam menghancurkan struktur biofilm yang sengaja dibentuk oleh koloni bakteri rintangan obat. Biofilm sering kali menjadi benteng pertahanan yang membuat antibiotik sintetik komersial kehilangan taring sama sekali. Komponen aktif dalam bawang putih bekerja dengan cara merusak matriks polimer ekstraseluler pembentuk biofilm tersebut, sehingga sel-sel bakteri di dalamnya kembali terpapar dan mudah dimusnahkan.

Riset biomedis terbaru juga menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak bawang putih tidak memicu lahirnya galur bakteri baru yang kebal obat secara instan. Hal ini terjadi karena senyawa bioaktif bawang putih bekerja dengan menyerang banyak target molekuler sekaligus di dalam sel bakteri. Bakteri mengalami kesulitan biologis yang sangat besar untuk melakukan mutasi genetik pelindung yang mampu menangkal seluruh serangan biokimia tersebut secara serentak.

Bawang putih juga menunjukkan interaksi klinis yang sangat positif saat dikombinasikan dengan penggunaan antibiotik konvensional modern. Senyawa organosulfur dalam umbi ini dapat bertindak sebagai agen pemodifikasi resistensi yang bertugas melumpuhkan pompa efluks pada membran bakteri. Ketika sistem pompa pengusir obat tersebut tidak berfungsi, antibiotik sintetis dapat bertahan di dalam sel bakteri dan menjalankan tugas destruksinya kembali.

Manfaat terapeutik dari *Allium sativum* tidak hanya terbatas pada sektor antimikroba murni, melainkan juga merambah pada perbaikan sistem kardiovaskular manusia. Senyawa diallyl trisulfide dalam bawang putih terbukti mampu merangsang produksi gas hidrogen sulfida di dalam pembuluh darah. Gas ini bekerja sebagai agen vasodilator alami yang merelaksasikan otot polos dinding pembuluh darah, sehingga tekanan darah dapat turun secara signifikan.

Konsumsi bawang putih secara teratur juga dikaitkan dengan penurunan kadar kolesterol jahat atau Low-Density Lipoprotein (LDL) di dalam darah pasien hiperlipidemia. Senyawa aktif bawang putih bekerja secara spesifik dengan cara menghambat aktivitas enzim HMG-CoA reduktase di dalam organ hati. Hambatan pada enzim ini secara otomatis menghentikan jalur biosintesis kolesterol internal tubuh tanpa mengganggu metabolisme lipid lainnya. Dari aspek hematologi, bawang putih mempamerkan aktivitas anti-trombotik yang sangat berguna untuk mencegah terjadinya stroke infark dan serangan jantung koroner. Komponen ajoene di dalam ekstrak bawang putih bekerja dengan cara menghambat proses agregasi

atau penggumpalan sel keping darah (trombosit). Efek pengenceran darah alami ini menjaga agar aliran darah di dalam pembuluh kapiler tetap berjalan lancar dan bebas dari sumbatan plasenta.

Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang melimpah dalam umbi bawang putih juga memberikan kapasitas antioksidan eksogen yang sangat kuat. Radikal bebas yang terbentuk akibat polusi lingkungan, stres internal, maupun proses peradangan dapat diredam secara efektif oleh donor elektron dari molekul fenolik tersebut. Aktivitas antioksidan ini melindungi sel-sel sehat tubuh dari risiko kerusakan DNA yang dapat memicu mutasi kanker ganas. Sistem imun tubuh manusia juga mendapatkan stimulasi positif dari konsumsi sediaan bawang putih terstandarisasi secara berkala. Senyawa aktif dalam umbi ini mampu meningkatkan aktivitas proliferasi sel limfosit t, sel pembunuh alami (natural killer cells), dan pembentukan makrofag. Peningkatan populasi sel imun ini membuat tubuh manusia menjadi jauh lebih siap dan agresif saat menghadapi invasi patogen asing dari luar.

Dari sudut pandang onkologi, beberapa penelitian *in vitro* mengindikasikan bahwa senyawa diallyl disulfide dalam bawang putih mampu menginduksi proses apoptosis pada sel kanker. Apoptosis adalah mekanisme kematian sel terprogram, pada jaringan tumor ganas proses tersebut biasa tidak berfungsi. Keberhasilan memicu kembali jalur kematian sel ini membuka peluang besar bagi pemanfaatan bawang putih sebagai terapi pendamping kemoterapi. Ketersediaan bahan baku bawang putih yang sangat melimpah dan merata di seluruh belahan dunia menjadi faktor ekonomi yang sangat menguntungkan. Bawang putih mudah dibudidayakan pada berbagai karakteristik lahan dan tidak membutuhkan teknologi pertanian yang terlalu rumit atau mahal. Keberlanjutan pasokan bawang putih sebagai bahan baku menjamin stabilitas harga jual produk farmasi herbal berbasis bawang putih di pasaran.

Pemanfaatan bawang putih dalam terapi herba juga mengurangi risiko efek samping beracun pada organ filtrasi seperti ginjal dan hati. Sebagian besar antibiotik sintetis sering meninggalkan residu toksik yang membebani kerja nefron ginjal dan hepatosit hati. Sebaliknya, komponen senyawa aktif bawang putih dapat dimetabolisme dan diekskresikan oleh tubuh manusia dengan cara yang sangat aman dan alami. Budaya penggunaan bawang putih sebagai bumbu dapur harian di Indonesia membuat masyarakat tidak merasa asing atau takut saat harus mengonsumsi bawang putih sebagai obat. Penerimaan psikologis yang tinggi tersebut mempermudah kepatuhan pasien dalam menjalankan program terapi herba jangka panjang. Bawang putih berhasil menjembatani batasan kaku yang selama ini memisahkan antara konsep makanan harian dan obat-obatan medis.

Industri farmasi herbal saat ini telah berhasil mengembangkan berbagai bentuk sediaan modern berbasis ekstrak bawang putih guna mengatasi masalah bau organoleptik. Produk-produk seperti kapsul minyak bawang putih, tablet salut selaput, hingga ekstrak bawang putih hitam (*black garlic*) kini tersedia luas di pasaran. Inovasi formulasi ini membuat konsumen dapat merasakan manfaat terapeutik bawang putih tanpa harus terganggu oleh aroma yang tajam. Kejelasan regulasi standarisasi ekstrak bahan alam di Indonesia turut mendorong kelas bawang putih ke ranah fitofarmaka ilmiah. Berbagai uji toksisitas akut dan uji efikasi klinis terhadap sediaan bawang putih terus dilakukan oleh berbagai institusi akademik dan pusat riset nasional. Langkah pembuktian ilmiah yang disiplin mampu memotong stigma bahwa pengobatan herba bawang putih hanya didasarkan pada tradisi kuno.

Penerapan teknologi analisis kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) kini memudahkan produsen untuk mengetahui kadar senyawa penanda di setiap batch produksi. Kepastian kadar alin atau alisin dalam setiap kapsul menjamin konsistensi efek terapi yang diterima oleh pasien saat mengonsumsi bawang putih. Kontrol kualitas yang ketat tersebut sejajar dengan

standar regulasi yang diterapkan pada industri obat konvensional. Struktur molekul organosulfur yang unik dari bawang putih juga sering kali menjadi inspirasi bagi para ahli kimia medis untuk mendesain obat sintetis baru. Melalui teknik pemodelan komputer, para ilmuwan mencoba meniru dan memodifikasi kerangka kimia alisin untuk menciptakan antibiotik hibrida berkekuatan tinggi. Dalam konteks ini, bawang putih bertindak sebagai guru biokimia yang menyediakan cetak biru molekuler berharga. Integrasi terapi herba bawang putih ke dalam sistem pelayanan kesehatan formal di puskesmas maupun rumah sakit kini mulai digalakkan melalui konsep kedokteran komplementer. Dokter dapat meresepkan suplemen bawang putih terstandarisasi untuk mendampingi terapi obat utama pada pasien hipertensi atau diabetes. Penyuntingan paradigma medis ini menciptakan sistem pelayanan kesehatan yang lebih holistik, aman, dan terjangkau bagi masyarakat.

D. Urgensi Pemilihan Pelarut Etanol dalam Ekstraksi



Gambar 1.4 Proses Ekstraksi Etanol pada Bawang Putih untuk Isolasi Senyawa Bioaktif

Keberhasilan eksplorasi senyawa bioaktif dari komoditas bahan alam sangat bergantung pada efisiensi proses ekstraksi yang dilakukan di laboratorium. Tahapan penyarian ini memegang peran krusial karena berfungsi memisahkan

metabolit sekunder target dari matriks seluler tumbuhan yang kompleks. Jika peneliti melakukan kesalahan pada tahap awal ini, senyawa berharga yang memiliki potensi terapeutik tinggi dapat tertinggal di dalam ampas dan terbuang sia-sia. Pemilihan jenis cairan penyari atau pelarut merupakan parameter paling menentukan yang mengontrol profil kimia serta kuantitas rendemen ekstrak akhir. Setiap pelarut memiliki karakteristik konstanta dielektrik yang unik, yang secara langsung memengaruhi kemampuan interaksi molekulernya dengan senyawa target. Dalam konteks isolasi organosulfur bawang putih, pelarut etanol menempati posisi urgensi tertinggi karena karakteristik fisikokimianya yang sangat ideal.

Etanol dikenal secara luas dalam dunia kimia bahan alam sebagai pelarut universal yang memiliki sifat dwikutub atau amfifilik. Struktur molekul etanol mengandung gugus hidroksil yang bersifat polar serta gugus alkil yang bersifat nonpolar dalam satu kesatuan ikatan. Sifat dualisme kelarutan ini memberikan keuntungan luar biasa karena memungkinkan etanol menarik spektrum senyawa aktif yang sangat luas sekaligus. Ketika diaplikasikan pada umbi bawang putih, fleksibilitas polaritas etanol bekerja secara optimal menangkap berbagai variasi kelompok senyawa kimia. Pelarut ini mampu melarutkan komponen polar seperti beberapa jenis glikosida dan flavonoid, serta komponen semi-polar hingga nonpolar seperti senyawa organosulfur. Keunggulan selektivitas yang luas ini memastikan bahwa ekstrak total yang didapatkan merepresentasikan kekayaan metabolit asli tanaman secara utuh.

Berdasarkan perspektif biokimia seluler, molekul etanol menunjukkan kemampuan penetrasi yang sangat superior melintasi dinding sel tanaman yang kaku. Jaringan umbi bawang putih dilindungi oleh struktur selulosa dan pektin yang sering kali menghalangi cairan sitoplasma keluar dari sel. Etanol mampu mengganggu stabilitas ikatan hidrogen pada dinding sel tersebut, lalu memicu pelunakan struktur mikroseluler secara bertahap. Selain melunakkan dinding sel, etanol bekerja lebih

jauh dengan cara memicu lisis atau kerusakan lapisan lipid bilayer pada membran plasma. Efek pelarutan lipid membran tersebut menyebabkan sel kehilangan sifat permeabilitas selektif, sehingga isi sitoplasma dapat mengalir keluar dengan bebas. Proses perpindahan massa zat terlarut dari dalam sel ke dalam cairan penyari berlangsung secara cepat dan efisien tanpa hambatan barikade seluler. Penggunaan etanol juga memberikan jaminan keamanan biologis yang sangat esensial bagi produk akhir sediaan farmasi manusia. Bila etanol dibandingkan dengan pelarut organik lain seperti metanol, kloroform, atau heksana, maka etanol memiliki indeks residu toksisitas yang jauh lebih rendah. Hal tersebut sangat krusial karena sisa (residu) pelarut organik dalam bahan baku obat dapat bersifat racun dan memicu kerusakan jaringan tubuh saat dikonsumsi oleh pasien.

Karakteristik etanol yang relatif aman membuat regulasi pengawasan obat di berbagai negara menempatkannya sebagai pelarut pilihan utama untuk industri obat herbal terstandar. Peneliti tidak perlu mengkhawatirkan dampak akumulasi residu beracun yang dapat mendegradasi nilai terapeutik dari ekstrak bawang putih itu sendiri. Kepastian aspek keamanan tersebut memotong jalur birokrasi pengujian toksisitas pelarut yang sering kali rumit dan memakan biaya besar. Sifat fisik etanol yang mudah menguap pada suhu yang relatif rendah juga memberikan efisiensi teknis yang tinggi saat memasuki tahapan purifikasi. Titik didih etanol yang berada di sekitar 78 derajat Celsius memudahkan proses pemisahan cairan penyari dari zat terlarut menggunakan alat rotavapor (rotary evaporator). Penguapan dapat berlangsung cepat tanpa menuntut paparan energi panas yang ekstrem pada kompartemen sampel. Kemudahan penguapan pada suhu rendah secara langsung melindungi integritas struktur senyawa bioaktif yang bersifat termosensitif atau tidak tahan panas. Banyak senyawa organosulfur di dalam bawang putih, termasuk alisin, mudah mengalami kerusakan atau polimerisasi sekunder jika terpapar suhu tinggi. Efisiensi termal pelarut etanol menjaga agar

molekul-molekul aktif tersebut tetap berada dalam bentuk asli yang berkhasiat tinggi. Etanol juga bertindak sebagai agen fiksasi dan penstabil yang handal untuk ketahanan stabilitas kimiawi alisin selama proses maserasi berlangsung. Senyawa alisin yang baru terbentuk dari reaksi enzimatis aliinase dikenal memiliki waktu paruh yang relatif singkat dan mudah terdegradasi. Kehadiran molekul etanol di sekeliling alisin membentuk lingkungan mikro yang mampu memperlambat laju degradasi hidrolitik senyawa tersebut.

Sifat antimikroba alami yang melekat pada cairan etanol berkonsentrasi tinggi turut memberikan perlindungan tambahan selama masa perendaman sampel. Proses ekstraksi konvensional seperti maserasi sering kali membutuhkan waktu beberapa hari di dalam wadah tertutup. Pelarut etanol secara efektif mencegah kontaminasi dan pertumbuhan jamur maupun bakteri pembusuk yang dapat merusak kualitas simplisia bawang putih. Pencegahan aktivitas mikroba kontaminan memastikan bahwa profil kimia ekstrak yang didapatkan murni berasal dari metabolit internal bawang putih. Tidak adanya senyawa asing hasil metabolit sekunder bakteri luar menjaga akurasi data pengujian aktivitas antibakteri pada tahap riset lebih lanjut. Kebersihan fasa ekstraksi menjadi standar baku yang tidak boleh ditawar dalam metodologi riset biomedis. Urgensi pemilihan etanol juga didukung oleh kemampuan etanol dalam menginaktivasi kerja enzim-enzim hidrolitik internal tanaman secara cepat setelah sel mengalami lisis. Beberapa enzim intraseluler bawang putih dapat memicu biokonversi berlebih pada senyawa fenolik jika tidak segera dihentikan aktivitas katalisnya. Etanol mendenaturasi protein enzim tersebut secara reversibel, sehingga komposisi senyawa target tetap terjaga pada kadar maksimal. Ketersediaan komersial pelarut etanol dengan berbagai tingkat kemurnian (*grade*) yang melimpah di pasaran mempermudah keberlanjutan riset skala laboratorium hingga industri. Produsen obat herbal dapat memperoleh pasokan etanol teknis maupun *pharmaceutical grade* dengan harga yang jauh lebih ekonomis dibandingkan

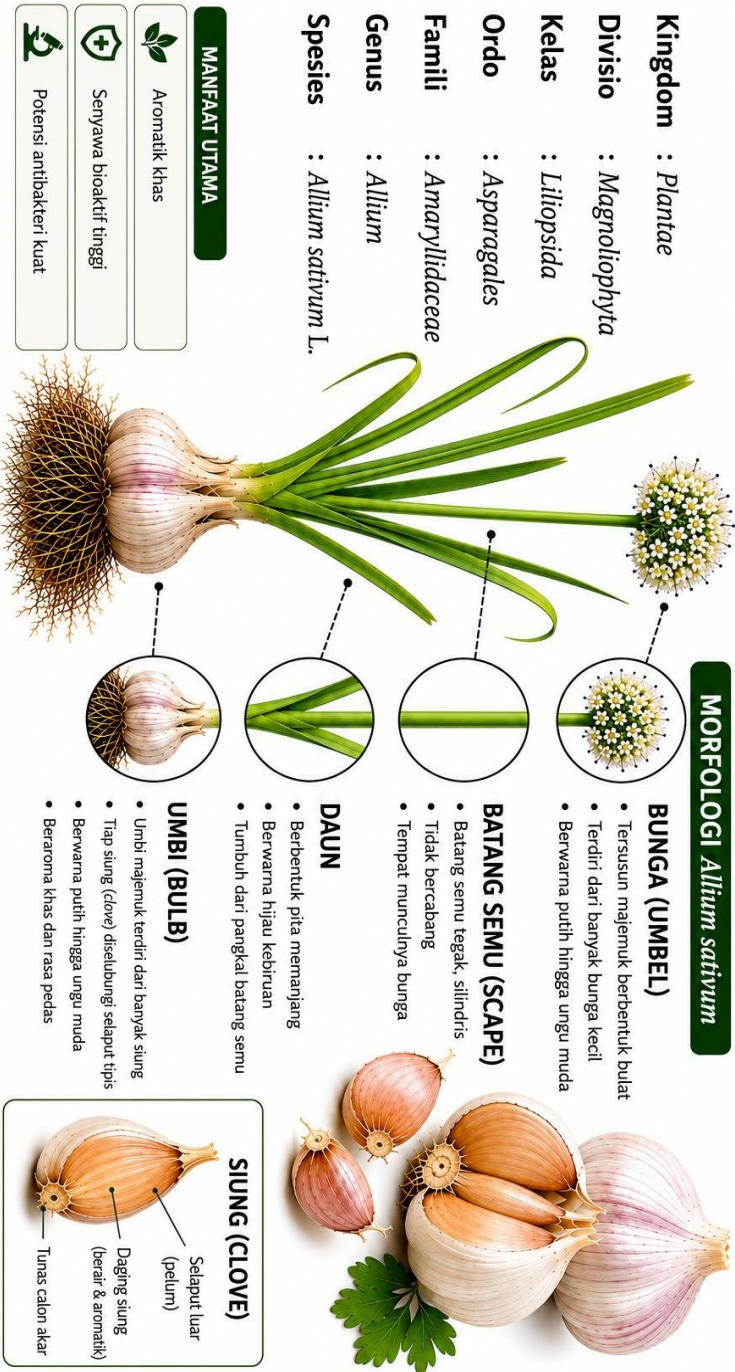
pelarut spesifik lain. Faktor keterjangkauan ekonomi menjamin efisiensi biaya operasional produksi dalam jangka panjang. Etanol juga memiliki keunggulan fleksibilitas karena dapat diencerkan dengan akuades untuk membentuk berbagai variasi tingkat konsentrasi sesuai kebutuhan spesifik senyawa target. Peneliti dapat mengatur persentase kadar air di dalam etanol, misal menjadi konsentrasi 70 persen atau 96 persen untuk mengoptimalkan daya tarik senyawa target oleh etanol. Pengaturan kadar air tersebut memengaruhi konstanta dielektrik campuran pelarut secara presisi.

BAB 2

KARAKTERISTIK BOTANI DAN PROFIL FITOKIMIA BAWANG PUTIH

A. Klasifikasi Taksonomi dan Morfologi *Allium sativum*

Pemahaman yang utuh mengenai aspek botani tanaman obat merupakan prasyarat mutlak sebelum melangkah pada analisis biokimia senyawa aktif yang lebih kompleks. Karakteristik genetik dan struktur fisik tumbuhan memegang kendali penuh terhadap jenis serta kapasitas jalur biosintesis metabolit sekunder di dalam sel, sehingga penentuan kedudukan taksonomi suatu tumbuhan secara presisi menjadi langkah awal yang penting untuk menjamin validitas ilmiah objek penelitian dan menghindari kesalahan identifikasi spesies di lapangan. Dalam sistem klasifikasi tumbuhan modern, bawang putih ditempatkan secara resmi ke dalam kingdom Plantae sebagai organisme eukariotik multiseluler yang memiliki kemampuan fotosintesis mandiri. Tanaman tersebut termasuk ke dalam divisi Tracheophyta karena memiliki jaringan pembuluh angkut berupa xilem dan floem yang telah berkembang sempurna untuk transportasi nutrisi dan air. Kehadiran sistem vaskular yang efisien mendukung kelancaran distribusi air dari akar menuju organ fotosintesis di daun.



Gambar 2.1 Klasifikasi Taksonomi dan Morfologi *Allium sativum* L.

65 Bawang putih dikelompokkan ke dalam kelas Liliopsida atau lebih dikenal sebagai kelompok tumbuhan berkeping biji tunggal (monokotil). Struktur monokotil ini membawa konsekuensi anatomis yang khas, seperti sistem pertulangan daun yang sejajar serta ketiadaan kambium sejati pada jaringan batangnya. Struktur tanpa kambium ini membatasi pertumbuhan sekunder lateral, sehingga batang tanaman cenderung berukuran kecil dan konstan. Tanaman ini berada di bawah ordo Asparagales, sebuah kelompok besar tumbuhan monokotil yang anggotanya banyak memproduksi senyawa organosulfur volatil yang berbau tajam. Pada tingkat famili, bawang putih dimasukkan ke dalam keluarga Amaryllidaceae yang terkenal kaya akan kandungan alkaloid dan komponen sulfur bioaktif. Anggota famili ini umumnya memiliki organ penyimpanan cadangan makanan di bawah tanah yang berbentuk umbi lapis atau bulbus. Secara lebih spesifik, bawang putih termasuk ke dalam subfamili Allioideae dan menempati genus *Allium*. Genus *Allium* merupakan salah satu kelompok tanaman hortikultura yang paling banyak dimanfaatkan manusia sebagai bumbu dapur sekaligus bahan baku obat herbal di seluruh dunia. Genus ini juga menaungi beberapa kerabat dekat bawang putih seperti bawang merah (*Allium cepa*) dan daun bawang (*Allium fistulosum*). Posisi taksonomi tertinggi dari tanaman ini dikunci pada tingkat spesies dengan nama binomial *Allium sativum* yang diperkenalkan pertama kali oleh Carolus Linnaeus. Nama spesifik *sativum* memiliki arti dibudidayakan, yang mencerminkan sejarah panjang domestikasi tanaman tersebut oleh peradaban manusia sejak ribuan tahun silam. Ketepatan penamaan binomial menjadi tolok ukur universal dalam seluruh literatur sains internasional untuk merujuk pada komoditas bawang putih sejati.

71 Menelaah aspek morfologi luar, *Allium sativum* merupakan tumbuhan herba semusim yang tumbuh merumpun dengan ketinggian berkisar antara 30 hingga 60 sentimeter. Bawang putih tidak memiliki batang sejati di atas permukaan tanah, melainkans berupa batang semu yang terbentuk dari

2

pelepah daun yang saling memeluk dengan sangat rapat. Batang semu berfungsi sebagai penopang struktural utama agar daun tetap tumbuh tegak ke atas menangkap cahaya matahari. Batang sejati bawang putih terletak di dalam tanah, berbentuk cakram tipis yang menjadi dasar tempat melekat siung dan akar tanaman. Batang cakram atau discus tersebut berukuran sangat pendek dan bertindak sebagai pusat pertumbuhan vegetatif utama bagi organ tumbuhan lainnya. Dari bagian atas cakram tersebut maka kuncup ketiak daun akan berkembang menjadi siung-siung baru secara berlapis. Sistem perakaran bawang putih termasuk ke dalam tipe akar serabut (*radix adventicia*) yang keluar langsung dari bagian bawah batang cakram. Akar serabut berjumlah sangat banyak namun memiliki daya penetrasi yang relatif dangkal ke dalam lapisan tanah, biasanya hanya mencapai kedalaman kurang dari 20 sentimeter. Karakteristik perakaran yang dangkal membuat tanaman bawang putih sangat sensitif terhadap kondisi kekeringan maupun genangan air yang berlebihan. Daun *Allium sativum* memiliki bentuk memanjang, sempit, dan pipih dengan ujung yang meruncing tajam mirip sebilah pedang. Permukaan daun dilapisi oleh lapisan lilin (*kutikula*) yang cukup tebal, yang memberikan warna hijau keabu-abuan yang khas pada tanaman. Lapisan lilin memiliki fungsi ekologis yang penting untuk menekan laju transpirasi atau penguapan air yang berlebihan saat suhu lingkungan meningkat. Daun bawang putih tumbuh secara berselingan dan membentuk struktur pelepah yang kokoh di bagian bawah untuk melindungi kuncup siung yang sedang berkembang. Susunan pertulangan daun sejajar mencerminkan identitas bawang putih sebagai tumbuhan monokotil, di mana jalur pembuluh angkut berjalan lurus dari pangkal hingga ujung daun. Efisiensi fotosintesis pada helaian daun menjadi penentu utama kuantitas pasokan karbohidrat yang akan dialirkan ke umbi.

Organ yang paling bernilai ekonomis dan medis dari *Allium sativum* adalah umbi lapis majemuk yang terbentuk di bawah permukaan tanah. Umbi bawang putih tidak berupa satu

bulatan tunggal melainkan tersusun atas kelompok kuncup berdaging yang disebut siung (*bulbillus*). Setiap umbi total biasanya terdiri atas 8 hingga 20 siung yang tersusun rapi mengelilingi poros batang pusat. Seluruh kumpulan siung tersebut dibungkus oleh beberapa lapisan selaput tipis bertekstur seperti kertas yang berwarna putih atau keunguan. Selaput pembungkus atau tunika bertindak sebagai barikade mekanis pelindung dari ancaman mikroba patogen tanah serta mencegah kehilangan kelembapan selama masa penyimpanan. Kekokohan tunika menjadi salah satu indikator kualitas simplisia bawang putih yang baik dalam industri farmasi. Setiap siung bawang putih secara anatomi dilindungi lagi oleh kulit pembungkusnya sendiri yang transparan namun kokoh. Di dalam kulit pelindung tersebut terdapat bagian berdaging tebal yang kaya cadangan makanan berupa karbohidrat kompleks jenis fruktan (polimer fruktosa). Bagian berdaging tersebut yang memproduksi dan menyimpan senyawa prekursor inaktif aliin di dalam kompartemen sitoplasma sel bawang putih secara konstan.

Pada beberapa varietas bawang putih tertentu, tanaman dapat memproduksi organ reproduksi berupa bunga majemuk yang tumbuh di ujung tangkai panjang yang keluar dari pusat umbi. Perbungaan tersebut berbentuk payung (*umbella*) dan dilindungi oleh seludang bunga pelindung tipis sebelum mekar sempurna. Bunga bawang putih berukuran kecil, berbentuk lonceng, dan biasa berwarna putih kemerahan atau merah muda pucat. Meskipun mampu menghasilkan bunga, sebagian besar varietas bawang putih modern telah kehilangan kemampuan biologis untuk menghasilkan biji yang fertil. Proses penyerbukan sering mengalami kegagalan akibat tingkat sterilitas polen yang sangat tinggi akibat seleksi domestikasi jangka panjang. Sehingga perbanyak tanaman bawang putih secara komersial di ladang pertanian hampir sepenuhnya mengandalkan jalur vegetatif menggunakan siung. Ketiadaan reproduksi seksual melalui biji menyebabkan variabilitas genetik bawang putih antar generasi cenderung sangat rendah

atau bersifat klonal. Karakteristik kimia dan morfologi tanaman anakan akan sama persis dengan tanaman induk tempat siung tersebut diambil. Pola pewarisan sifat yang stabil memberikan keuntungan besar bagi industri farmasi dalam mempertahankan konsistensi mutu bahan baku obat herbal. Secara ekologis, morfologi bawang putih yang kompak memungkinkan bawang putih tumbuh optimal pada wilayah dataran tinggi dengan iklim yang cenderung sejuk dan kering. Suhu lingkungan yang ideal untuk merangsang pembentukan umbi bawang putih yang maksimal berkisar antara 15 hingga 20 derajat Celsius. Paparan suhu dingin pada fase awal pertumbuhan sangat krusial untuk memicu aktivasi hormon pertumbuhan internal tanaman.

20

B. Komposisi Kimia Makro dan Mikro Nutrien Umbi Bawang Putih

66

Umbi bawang putih (*Allium sativum*) memiliki susunan kimia yang sangat terstruktur, sistematis, dan logis. Seluruh bagian berdaging dari umbi bawang putih tersusun atas kombinasi zat gizi makro (makronutrien) serta zat gizi mikro (mikronutrien) yang seimbang untuk mendukung fungsi biologis dan metabolisme tanaman. Air merupakan komponen makronutrien dengan persentase terbesar di dalam jaringan umbi bawang putih segar. Air bertindak sebagai pelarut universal yang mengisi ruang vakuola serta sitoplasma sel tumbuhan. Keberadaan air yang melimpah sangat krusial karena berfungsi memfasilitasi seluruh mobilitas transportasi nutrisi dan reaksi enzimatik internal di dalam sel umbi. Karbohidrat menempati posisi sebagai komponen bahan kering terbesar dan sumber energi utama dalam struktur umbi bawang putih. Komponen karbohidrat yang mendominasi cadangan makanan tanaman ini adalah jenis fruktan yaitu suatu polimer fruktosa kompleks. Fruktan tersimpan secara konstan di dalam sel penyimpanan umbi untuk mengontrol pasokan energi selama masa pertumbuhan vegetatif maupun fase dormansi tanaman.

Protein dan asam amino bebas membentuk rangka nitrogen yang menyusun struktur seluler umbi bawang putih secara spesifik. Bawang putih mengkonsentrasikan protein struktural dan enzim fungsional yang terlibat aktif dalam jalur biosintesis metabolit. Komponen asam amino bebas yang melimpah pada bawang putih menjadi indikator penting bagi mutu simplisia tanaman obat. Asam amino bersulfur yang bernama aliin (S-allylcysteine sulfoxide) merupakan senyawa khas yang berada di dalam sitoplasma sel umbi secara stabil. Aliin bertindak sebagai prekursor inaktif yang menjadi pilar dasar dari seluruh aktivitas fitokimia bawang putih. Struktur kimia aliin sengaja dipisahkan secara spasial di dalam sel untuk mencegah reaksi dini sebelum jaringan umbi mengalami kerusakan mekanis. Kandungan lipid atau lemak di dalam umbi bawang putih ditemukan dalam konsentrasi yang sangat rendah. Komponen lipid dalam bawang putih sebagian besar berupa fosfolipid dan glikolipid yang menyusun arsitektur lapisan lipid bilayer pada membran plasma sel. Walaupun jumlah lipid membran sel sedikit tetapi sangat esensial, karena memiliki peran vital dalam menjaga fluiditas, permeabilitas, dan integritas struktural membran sel umbi bawang putih. Kelompok mikronutrien pada umbi bawang putih mencakup berbagai mineral makro dan mikro yang diserap secara selektif dari dalam tanah melalui sistem perakaran tanaman. Mineral-mineral tersebut terdistribusi secara merata di dalam matriks seluler umbi. Kehadiran mineral tersebut sangat dibutuhkan sebagai kofaktor fungsional untuk mengaktifasi berbagai enzim pada jalur metabolisme sekunder. Kalium dan fosfor merupakan dua jenis mineral makro yang mendominasi komposisi abu dari umbi bawang putih. Kalium berperan penting dalam meregulasi tekanan osmotik sel, menjaga keseimbangan cairan, serta mengontrol mekanisme pembukaan stomata tanaman. Sementara fosfor bertindak sebagai komponen penyusun asam nukleat dan molekul transfer energi tinggi di dalam sel.

72

Bawang putih secara alami mengkonsentrasikan unsur sulfur atau belerang dalam jumlah yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan jenis sayuran umbi lain. Penyerapan sulfur dari tanah berlangsung secara agresif untuk mendukung sintesis asam amino sistein dan metionin. Unsur sulfur berperan sebagai bahan baku utama bagi pembentukan seluruh kelompok senyawa organosulfur bioaktif. Kalsium dan magnesium turut melengkapi profil mineral makro yang menyusun dinding sel serta inti sel umbi bawang putih. Kalsium berikatan dengan pektin untuk memperkuat struktur lamela tengah pada dinding sel sehingga umbi memiliki konsistensi yang kompak dan kokoh. Magnesium menempati posisi sentral sebagai inti dari cincin porfirin yang mengoptimalkan fungsi katalitis enzim intraseluler. Unsur mineral mikro seperti besi, seng, mangan, dan tembaga juga teridentifikasi dalam jumlah sedikit di dalam jaringan umbi. Zat besi dan mangan terlibat langsung dalam sistem transpor elektron dan aktivitas enzim antioksidan internal tanaman seperti superoksida dismutase. Seng berperan sebagai stabilisator struktural bagi berbagai protein pengikat DNA di dalam inti sel umbi. Kelompok vitamin larut air menyusun keragaman mikronutrien organik di dalam cairan sitosol umbi bawang putih. Kompleks vitamin B, terutama tiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), niasin (vitamin B3), dan piridoksin (vitamin B6) ditemukan dalam jumlah yang signifikan. Vitamin kompleks B tersebut bertindak sebagai koenzim esensial yang menggerakkan enzim pada jalur respirasi seluler tanaman.

23

Asam askorbat atau vitamin C juga terkandung di dalam umbi bawang putih sebagai sistem pertahanan antioksidan endogen. Vitamin C berfungsi melindungi komponen seluler umbi dari kerusakan oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas lingkungan. Konsentrasi asam askorbat sangat fluktuatif karena dipengaruhi oleh tingkat kematangan umbi dan kondisi penyimpanan pasca-panen. Komposisi zat gizi makro dan mikro yang terintegrasi membentuk sebuah matriks fitokimia yang kokoh dan saling mendukung. Kehadiran makronutrien

menjamin ketersediaan energi dan bahan bangunan seluler bagi kelangsungan hidup umbi. Di sisi lain, mikronutrien memastikan bahwa seluruh perangkat fungsional dan mekanis sel dapat bekerja dengan efisiensi biologis yang tinggi. Pemetaan komposisi makronutrien dan mikronutrien dapat memberikan pemahaman ilmiah yang logis mengenai nilai fundamental dari umbi bawang putih. Susunan nutrisi yang lengkap tidak hanya menentukan kualitas fisik dan daya simpan simplisia. Konsistensi kadar nutrisi dasar menjadi prasyarat mutlak yang memicu aktivitas enzimatis untuk memproduksi senyawa bioaktif utama pada bawang putih.

C. Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Utama

Umbi bawang putih (*Allium sativum*) bertindak sebagai pabrik kimia alami yang memproduksi ratusan senyawa bioaktif berupa metabolit sekunder. Tanaman secara alami menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai bentuk adaptasi pertahanan terhadap ancaman lingkungan sekitarnya. Kompleksitas struktur molekul alami yang diproduksi oleh jaringan tanaman dihasilkan secara spesifik untuk menangkal serangan hama serta infeksi mikroba di alam bebas.

Kajian mendalam menggunakan metode ekstraksi yang tepat di laboratorium membuktikan bahwa suatu golongan metabolit sekunder dapat ditarik secara optimal menggunakan cairan penyari yang sesuai. Pelarut etanol menempati posisi dengan urgensi tertinggi karena fleksibilitas polaritasnya mampu melarutkan komponen polar, semi-polar, hingga nonpolar secara simultan. Keunggulan selektivitas pelarut universal memastikan bahwa ekstrak total yang didapatkan merepresentasikan kandungan metabolit asli suatu tanaman secara utuh.

Golongan senyawa metabolit sekunder yang paling dominan, khas, dan menjadi ciri utama dari umbi bawang putih adalah kelompok organosulfur atau senyawa sulfur. Senyawa kimia berbasis belerang tersebut bertanggung jawab penuh terhadap pembentukan aroma tajam dan rasa pedas yang

menyengat. Selain menentukan karakteristik organoleptik, kelompok sulfur memegang peran sentral sebagai zat aktif utama yang mengendalikan sebagian besar aktivitas biologis dan daya antimikroba suatu tanaman.

Mekanisme penyimpanan dan aktivasi senyawa sulfur di dalam matriks seluler umbi bawang putih berlangsung melalui tahapan yang sangat rapi dan sistematis. Saat jaringan umbi bawang putih masih berada dalam kondisi utuh, tanaman tersebut menyimpan senyawa prekursor tak aktif yang bernama aliin di dalam sitoplasma. Keunikan struktur kimia ini sengaja dirancang agar zat aktif tersebut tetap berada dalam kondisi stabil dan tidak mengalami kerusakan selama masa vegetatif tanaman. Ketika umbi bawang putih mengalami kerusakan fisik akibat dipotong, dihancurkan, digerus, atau diekstraksi di laboratorium, sebuah reaksi enzimatik yang sangat cepat akan segera terjadi. Enzim alinase yang semula tersimpan terpisah di dalam vakuola sel akan keluar dan langsung berinteraksi melakukan kontak molekuler dengan aliin. Reaksi hidrolisis dan kondensasi spontan tersebut mengubah aliin menjadi sebuah sebatian organosulfur volatil bernama alisin.

Molekul alisin menempati posisi yang sangat penting dalam dunia biomedis karena memiliki reaktivitas biologis dan aktivitas antimikroba yang sangat kuat. Alisin bekerja secara agresif menembus dinding sel mikroba karena bersifat cenderung lipofilik sehingga mudah melewati baris pertahanan bakteri. Ketika berada di dalam sitoplasma patogen, alisin langsung menyerang gugus tiol pada protein esensial dan melumpuhkan metabolisme mikroba secara instan.

Karakteristik alisin yang bersifat tidak stabil dan memiliki waktu paruh singkat membuatnya mudah mengalami degradasi atau polimerisasi sekunder. Proses ekstraksi lebih lanjut atau kontak dengan media pelarut etanol akan merangsang konversi alisin menjadi senyawa turunan sulfur sekunder yang lebih stabil. Perubahan lingkungan pelarut menghasilkan komparasi senyawa turunan baru seperti ajoene, vinilditiin, diallyl sulfide, diallyl disulfide, dan diallyl trisulfide. Selain senyawa sulfur,

fleksibilitas profil kimia umbi bawang putih juga didukung secara kuat oleh keberadaan kelompok senyawa fenolik. Senyawa fenolik merupakan molekul organik hasil metabolisme sekunder yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Kehadiran komponen fenolik di dalam matriks sel berkontribusi sangat masif bagi kapasitas pertahanan internal jaringan tanaman bawang putih. Kontribusi utama dari senyawa fenolik dalam umbi bawang putih adalah menyediakan kapasitas antioksidan eksogen yang sangat kuat. Radikal bebas yang terbentuk akibat polusi lingkungan atau stres oksidatif internal dapat diredam secara efektif melalui donor elektron dari molekul fenolik tersebut. Aktivitas antioksidan secara biologis berfungsi melindungi sel-sel sehat dari risiko kerusakan struktural maupun mutasi DNA.

Golongan senyawa flavonoid turut melengkapi kekayaan metabolit sekunder non-sulfur yang terkandung di dalam ekstrak umbi bawang putih. Flavonoid merupakan subgolongan fenolik yang secara struktural memiliki variasi gugus fungsi yang efektif untuk merusak komponen seluler luar mikroba. Tanaman mengekskresikan senyawa flavonoid sebagai agen proteksi alami untuk menekan laju pertumbuhan koloni bakteri dan jamur patogen.

Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat mikroba patogen berlangsung secara berlapis melalui gangguan stabilitas mekanis. Senyawa flavonoid mampu berinteraksi secara spesifik dengan protein ekstraseluler pada dinding sel bakteri, sehingga memicu kerusakan dan kebocoran membran sitoplasma. Akibat kerusakan membran tersebut, maka permeabilitas selektif sel menjadi hilang dan menyebabkan kematian sel bakteri secara masif.

Umbi bawang putih juga mengkonsentrasikan kelompok senyawa saponin di dalam matriks seluler tanaman sebagai bentuk pertahanan kimiawi. Saponin merupakan kelompok senyawa glikosida kompleks yang menggabungkan gugus hidrofilik berupa molekul gula dengan gugus hidrofobik berupa aglikon steroid. Karakteristik amfifilik yang unik tersebut

15

memberikan sifat fisik khas yang mampu membentuk busa stabil saat dikocok di dalam media air. Dalam sistem pertahanan tanaman, saponin bertindak sebagai racun pelindung alami untuk menangkal serangan hama predator maupun infeksi mikroba liar, saponin bekerja dengan cara berikatan secara kuat pada molekul sterol yang menyusun membran sel bakteri patogen. Ikatan tersebut memicu pembentukan pori-pori abnormal yang menyebabkan lisis sel atau kebocoran sitoplasma bakteri sehingga pertumbuhan koloni terhenti.

Keberadaan kelompok senyawa glikosida non-sulfur dan minyak atsiri non-sulfur lainnya ikut memperkaya keragaman fitokimia umbi bawang putih. Seluruh komponen kimia non-sulfur tersebut terdistribusi secara sistematis dan larut secara optimal bersama senyawa sulfur di dalam pelarut ekstraksi etanol. Sinergisme biokimia antar-golongan metabolit sekunder yang membuat spektrum aktivitas terapi bawang putih menjadi sangat luas.

Kombinasi multi-komponen senyawa aktif yang mencakup sulfur, fenolik, flavonoid, dan saponin terbukti menghasilkan efikasi berlapis yang mempersulit bakteri menghadapi serangan obat antibakteri. Karakteristik multi-target tersebut memotong kemampuan sel bakteri patogen untuk membangun mutasi genetik pelindung yang efektif. Melalui pemetaan golongan metabolit sekunder utama, maka posisi strategis bawang putih sebagai agen antibakteri herba yang andal dapat dibuktikan secara empiris.

D. Faktor Lingkungan yang Memengaruhi Mutu Kimia Bahan Baku

Kadar dan komposisi senyawa metabolit sekunder di dalam umbi bawang putih bersifat sangat dinamis karena tidak hanya dikendalikan oleh faktor genetik tanaman. Variabilitas kadar zat aktif yang terdapat dalam simplisia umbi bawang putih sangat dipengaruhi oleh faktor eksternal, terutama kondisi lingkungan tempat budidaya. Fluktuasi unsur-unsur abiotik di sekitar lahan pertanian secara langsung dapat mengubah arah

jalur biosintesis komponen kimia di dalam sel umbi. Sehingga standardisasi budidaya tanaman obat menjadi kunci penting untuk menjamin konsistensi mutu dan efek terapi produk akhir sediaan farmasi.

Karakteristik tanah dan ketersediaan nutrisi di lahan pertanian memegang kendali penuh terhadap kapasitas produksi zat bioaktif bawang putih. Tanah bertindak sebagai media tumbuh sekaligus penyedia unsur hara esensial yang diserap oleh sistem perakaran tanaman. Komposisi mineral di dalam tanah secara sistematis memengaruhi kelancaran metabolisme primer maupun sekunder tanaman. Ketidakeimbangan hara tanah secara logis akan menurunkan kualitas fisik dan mutu kimiawi dari umbi yang dihasilkan.

Ketersediaan unsur sulfur atau belerang di dalam tanah merupakan parameter paling menentukan bagi mutu fitokimia bawang putih. Tanaman bawang putih menyerap unsur sulfur secara agresif dari tanah untuk mensintesis prekursor asam amino alin di dalam sitoplasma. Jika tanah tempat budidaya kekurangan pasokan sulfur, akumulasi senyawa organosulfur volatil seperti alisin di dalam umbi akan menurun drastis. Penurunan kadar sulfur secara otomatis mereduksi daya antibakteri dan aroma khas dari ekstrak bawang putih.

Ketinggian tempat tumbuh menentukan profil suhu dan kelembapan udara yang memengaruhi seluruh fase perkembangan bawang putih. Kondisi geografis lahan memicu tekanan lingkungan tertentu yang direspon oleh regulasi hormon internal tanaman. Tanaman bawang putih secara morfologis dan biokimia membutuhkan paparan suhu spesifik untuk merangsang pembentukan umbi. Perbedaan ketinggian tempat tumbuh akan menghasilkan variasi ketebalan dan kadar bahan kering umbi yang signifikan. Tanaman bawang putih tumbuh secara optimal pada wilayah dataran tinggi yang memiliki karakteristik iklim cenderung sejuk dan kering. Paparan suhu dingin pada fase awal pertumbuhan sangat krusial untuk memicu aktivasi hormon pertumbuhan internal tanaman. Kondisi iklim yang sejuk merangsang pembentukan

ukuran umbi lapis majemuk yang maksimal serta pengisian siung yang rapat. Sebaliknya, budidaya di dataran rendah dengan suhu panas terbukti menghambat pembentukan umbi secara sempurna.

Intensitas curah hujan dan sistem pengairan di ladang mengontrol stabilitas kadar air di dalam jaringan umbi bawang putih. Sistem perakaran serabut bawang putih memiliki daya penetrasi yang cenderung dangkal ke dalam lapisan tanah. Karakteristik akar yang dangkal ini membuat tanaman bawang putih sangat sensitif terhadap kelebihan maupun kekurangan pasokan air. Pengaturan volume air pada media tanam menjadi faktor kritis yang mengendalikan kualitas simplisia.

Curah hujan yang terlalu tinggi atau genangan air yang berlebihan pada lahan pertanian dapat berdampak buruk bagi kualitas umbi. Kelebihan air menjelang masa panen dapat meningkatkan persentase kadar air di dalam umbi secara abnormal. Kondisi tersebut tidak hanya menurunkan kadar rendemen ekstrak total, melainkan juga memicu risiko pembusukan akibat infeksi mikroba tanah. Kelembapan tanah yang terlalu tinggi merusak barikade mekanis selaput tipis pembungkus siung bawang putih. Paparan cahaya matahari menentukan efisiensi proses fotosintesis pada helaian daun *Allium sativum* yang berbentuk pita memanjang. Durasi dan intensitas penyinaran matahari mengontrol kuantitas konversi energi cahaya menjadi energi kimia berupa karbohidrat. Daun yang mendapatkan pasokan cahaya matahari secara optimal akan menghasilkan glukosa yang melimpah. Aliran asimilat ini menjadi bahan baku bagi pembentukan struktur organ tubuh tanaman di bawah tanah.

Penyinaran matahari yang cukup menjamin kelancaran aliran pasokan karbohidrat jenis fruktan dari daun menuju umbi. Energi hasil fotosintesis ini disimpan di dalam bagian berdaging tebal siung sebagai cadangan makanan utama. Karbohidrat kompleks dialokasikan oleh sel sebagai sumber karbon utama untuk menjalankan jalur metabolisme sekunder. Tanpa paparan cahaya yang memadai, kapasitas sintesis

senyawa fenolik dan flavonoid pelindung di dalam umbi akan melemah.

Stres biotik yang disebabkan oleh interaksi ekosistem seperti serangan hama atau paparan mikroba liar bertindak sebagai elisitor alami. Ketika tanaman mendeteksi adanya ancaman dari organisme luar, sistem pertahanan internalnya akan terstimulasi secara agresif. Sel tanaman merespon sinyal bahaya tersebut dengan mengaktifkan jalur ekspresi gen pembentuk senyawa antimikroba. Tekanan biologi memicu pergeseran metabolisme dari primer menuju sekunder.

Tanaman secara alami memproduksi dan meningkatkan kadar senyawa metabolit sekunder justru sebagai bentuk adaptasi pertahanan terhadap ancaman lingkungan sekitar. Senyawa seperti sulfur, fenolik, flavonoid, dan saponin diproduksi untuk menangkal serangan hama serta infeksi mikroba liar. Sehingga tingkat tekanan biotik yang terkendali di alam bebas dapat memicu akumulasi zat aktif secara lebih melimpah. Fluktuasi zat aktif inilah yang melatarbelakangi pentingnya standardisasi simplisia. Karakteristik fisik tanah seperti tekstur, porositas, dan tingkat kepadatan tanah turut memengaruhi ruang gerak pembesaran umbi bawang putih. Tanah gembur yang kaya bahan organik memberikan ruang mekanis yang ideal bagi ekspansi volume siung bawah tanah. Sebaliknya, tanah yang terlalu padat atau liat menghambat pembesaran diameter umbi lapis majemuk. Hambatan fisik secara tidak langsung memengaruhi akumulasi total biomassa dan rendemen zat aktif. Derajat keasaman atau pH tanah memengaruhi tingkat kelarutan dan ketersediaan unsur mineral yang dapat diserap oleh akar bawang putih. Pada kondisi pH tanah yang terlalu asam atau terlalu basa, penyerapan sulfur dan mineral mikro akan terhambat. Gangguan penyerapan hara dapat melumpuhkan aktivitas enzim internal tanaman yang membutuhkan kofaktor mineral. Manajemen kapasitas pH tanah melalui pengapuran menjadi langkah penting untuk menjaga mutu kimia bahan baku. Faktor lingkungan pasca-panen seperti suhu dan kelembapan ruang penyimpanan simplisia juga ikut

menentukan stabilitas mutu kimia. Umbi bawang putih yang disimpan pada lingkungan yang terlalu lembap dapat memicu konversi dini aliin akibat aktivitas enzimatis internal. Selain itu, kelembapan tinggi merangsang pertumbuhan jamur kontaminan yang dapat mendegradasi senyawa fenolik. Kontrol suhu ruang simpan sangat krusial untuk menjaga integritas senyawa bioaktif.

Secara keseluruhan, integrasi antara faktor tanah, iklim, air, cahaya, dan manajemen pasca-panen membentuk sebuah sistem yang mengontrol profil kimia tanaman. Pemahaman yang utuh mengenai seluruh aspek ekologis membantu para produsen untuk meminimalkan variabilitas kadar zat aktif bawang putih. Standardisasi faktor lingkungan menjadi landasan mutlak untuk menghasilkan bahan baku obat herbal yang memenuhi indikator klinis objektif.

E. Standardisasi Mutu Simplisia Bawang Putih

Standardisasi mutu simplisia umbi bawang putih (*Allium sativum*) merupakan instrumen utama dalam menjaga kontrol kualitas produk di pasaran. Parameter standardisasi tersebut diterapkan secara ketat guna menjamin konsistensi mutu, efikasi terapi, serta kepastian aspek keamanan biologis bagi konsumen sediaan farmasi herbal. Kejelasan regulasi terkait kategori sediaan herbal memacu para peneliti untuk menyajikan data toksisitas dan efikasi yang valid melalui serangkaian uji laboratorium yang disiplin. Langkah pembuktian ilmiah sangat penting untuk memotong stigma bahwa pengobatan bahan alam hanya berdasarkan mitos tanpa dasar konseptual.

Penerapan standardisasi mutu simplisia yang sistematis dan berbasis bukti ilmiah berhasil mengangkat kelas bawang putih ke ranah fitofarmaka ilmiah. Kredibilitas industri obat berbahan alam dinilai berdasarkan kedisiplinan dalam menerapkan kontrol kualitas dari hulu hingga ke hilir. Komunitas medis konvensional dapat menerima sediaan herba bawang putih apabila memiliki data yang jelas dan mutu bahan baku yang seragam. Sehingga penetapan indikator mutu

fisikokimia menjadi prasyarat mutlak yang tidak boleh diabaikan dalam metodologi riset biomedis.

Evaluasi karakteristik organoleptik merupakan langkah awal yang wajib dilakukan untuk memeriksa identitas dan keaslian simplisia umbi bawang putih. Pemeriksaan ini meliputi pengujian bau aromatik yang khas, rasa pedas yang menyengat, serta penampilan fisik luar dari umbi lapis majemuk. Selaput luar pembungkus siung yang ulet dan berwarna putih hingga ungu muda menjadi penanda visual bagi kualitas simplisia yang baik. Kekokohan tunika pembungkus tersebut bertindak sebagai barikade mekanis awal yang melindungi kompartemen daging siung dari kerusakan fisik. Penetapan kadar senyawa penanda (*marker*) merupakan parameter spesifik paling kritis dalam menjamin efikasi klinis dari simplisia bawang putih. Industri farmasi modern menggunakan teknologi Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk memastikan konsistensi kadar zat aktif di setiap batch produksi. Analisis difokuskan untuk mengukur persentase minimum alin atau kapasitas konversi menjadi senyawa alisin setelah jaringan mengalami lisis. Kepastian kadar senyawa penanda tersebut memberikan garansi bahwa efek antibakteri yang diterima oleh pasien akan selalu konstan.

Kontrol terhadap senyawa penanda juga berfungsi sebagai instrumen utama untuk mencegah terjadi praktik pemalsuan bahan baku obat herbal. Di pasar komersial, keberadaan senyawa penanda memastikan tidak adanya campuran bahan tanaman lain atau penambahan bahan kimia obat berbahaya. Standardisasi zat aktif memisahkan produk herbal ilmiah dari sediaan tradisional yang mutunya tidak terukur. Konsistensi kadar komponen bioaktif menyebabkan variabilitas efek terapeutik akibat perbedaan asal lahan budidaya dapat diminimalkan secara signifikan.

Penetapan batas maksimum kadar air di dalam simplisia kering menjadi parameter non-spesifik yang mengontrol stabilitas produk selama masa penyimpanan. Persentase kandungan air di dalam jaringan bawang putih harus ditekan

serendah mungkin melalui proses pengeringan yang optimal. Pengontrolan kadar air sangat krusial untuk menghentikan aktivitas enzimatik internal yang dapat memicu perombakan zat aktif secara prematur. Lingkungan kering menghalangi penetrasi dan pertumbuhan mikroba kontaminan dari luar pembungkus.

Simplisia bawang putih yang disimpan pada kondisi yang terlalu lembap dapat memicu konversi dini akibat aktivitas enzim alinase yang aktif. Aktivasi dini enzim tersebut menyebabkan terjadi kehilangan senyawa bioaktif volatil sebelum simplisia sempat diekstraksi di laboratorium. Kelembapan yang tinggi juga merangsang pertumbuhan jamur kontaminan yang dapat merusak kualitas fisik simplisia dan mendegradasi gugus fenolik. Sehingga pemantauan kadar air secara berkala menjadi standar baku yang wajib dipenuhi. Pengujian kadar abu total dilakukan untuk mengukur tingkat kebersihan simplisia dari kontaminasi materi anorganik eksternal. Proses tersebut dilakukan dengan cara memanaskan sampel simplisia bawang putih pada suhu tinggi hingga seluruh senyawa karbon terbakar menjadi arang. Sisa abu yang didapatkan merepresentasikan jumlah mineral internal tanaman sekaligus mendeteksi adanya kontaminan pasir atau tanah yang terbawa saat panen. Nilai kadar abu yang melebihi standar baku mengindikasikan penanganan pasca-panen yang buruk di tingkat petani.

Standardisasi bahan baku juga menetapkan batas ambang yang ketat terhadap cemaran logam berat seperti timbal, kadmium, dan arsenik di dalam simplisia. Tanaman bawang putih yang ditanam pada lahan yang tercemar dapat menyerap molekul logam berat tersebut secara pasif melalui akar serabut. Akumulasi logam berat di dalam jaringan umbi sangat berbahaya karena dapat memicu efek samping toksisitas akut maupun kronis pada manusia. Pengawasan yang disiplin memastikan bahwa produk akhir sediaan herba aman bagi organ penyaring seperti ginjal dan hati. Batas residu pestisida menjadi parameter non-spesifik lain yang wajib diperiksa untuk

menjamin keamanan biologis konsumen. Penggunaan zat kimia sintetis selama masa budidaya di ladang pertanian sering kali meninggalkan sisa senyawa yang sulit terurai pada umbi. Simplisia bawang putih harus dinyatakan bebas dari residu pestisida melalui pengujian laboratorium yang akurat sebelum masuk ke tahap ekstraksi. Profil biokompatibilitas yang ramah terhadap sistem fisiologis tubuh pasien hanya dapat dicapai jika simplisia bersih dari polutan kimia.

Pengujian batas cemaran mikroba dilakukan untuk menjamin bahwa simplisia bawang putih terbebas dari invasi bakteri patogen dan kapang. Sifat antimikroba alami dari senyawa sulfur bawang putih mampu memberikan perlindungan endogen yang kuat bagi jaringan umbi. Namun, kontaminasi luar saat proses perendaman maserasi konvensional yang memakan waktu beberapa hari tetap harus diantisipasi. Sterilitas fase ekstraksi menjamin bahwa data aktivitas antibakteri yang didapatkan murni berasal dari metabolit bawang putih.

Kapasitas rendemen ekstrak total menjadi indikator kualitas yang menunjukkan efisiensi penarikan zat aktif oleh cairan penyari. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol harus menghasilkan persentase rendemen yang tinggi sesuai dengan standar baku yang ditetapkan. Nilai rendemen yang tinggi membuktikan bahwa fraksinasi berhasil menarik sebagian besar komponen organik dari matriks sel tanaman. Jika nilai rendemen terlalu rendah, hal tersebut mengindikasikan adanya kesalahan dalam pemilihan teknik atau parameter kritis ekstraksi. Penerapan teknologi nano dalam sistem penghantaran obat saat ini mulai diintegrasikan untuk mengatasi kelemahan fisikokimia ekstrak simplisia. Senyawa alam yang memiliki sifat tidak stabil atau aroma yang terlalu tajam dapat dilindungi melalui teknik enkapsulasi nanopartikel. Inovasi nanoteknologi memastikan zat aktif dari simplisia bawang putih yang telah terstandardisasi dapat mencapai target seluler tanpa rusak di saluran cerna. Formulasi tersebut meningkatkan bioavailabilitas zat aktif di dalam cairan tubuh pasien.

Generasi baru tenaga kesehatan perlu dibekali dengan data standarisasi simplisia agar dapat memberikan penilaian objektif terhadap terapi herbal. Integrasi ilmu bahan alam ke dalam kurikulum pendidikan tinggi kedokteran dan farmasi sangat penting untuk membangun pemahaman yang selaras. Pendidikan berbasis bukti ilmiah menjadi jembatan utama untuk menyatukan metode konvensional dan tradisional di fasilitas pelayanan kesehatan. Dokter dapat meresepkan suplemen bawang putih terstandarisasi untuk mendampingi terapi komplementer. Secara keseluruhan, standarisasi mutu simplisia bawang putih membentuk sebuah sistem kontrol yang komprehensif dan berlapis. Keseimbangan antara pengujian parameter spesifik dan non-spesifik menjamin mutu produk herbal dari hulu hingga hilir. Melalui disiplin kontrol kualitas yang ketat, maka bawang putih dapat digunakan sebagai sediaan farmasi yang presisi. Standarisasi tersebut menjadi solusi jangka panjang demi menjaga keberlanjutan kesehatan peradaban manusia.

BAB 3

PRINSIP BIOKIMIA EKSTRAKSI DENGAN PELARUT ETANOL

70

A. Sifat Fisikokimia Pelarut Etanol

Keberhasilan eksplorasi senyawa bioaktif dari komoditas bahan alam sangat bergantung pada efisiensi proses ekstraksi yang dilakukan di laboratorium. Tahapan penyarian (skrining) memegang peran krusial karena berfungsi memisahkan metabolit sekunder target dari matriks seluler tumbuhan yang kompleks. Jika peneliti melakukan kesalahan pada tahap awal tersebut, senyawa berharga yang memiliki potensi terapeutik tinggi dapat hilang dan tertinggal di dalam residu dan terbuang sia-sia. Pemilihan jenis cairan penyari atau pelarut merupakan parameter paling menentukan yang mengontrol profil kimia serta kuantitas rendemen ekstrak akhir. Setiap pelarut memiliki karakteristik konstanta dielektrik yang unik, yang secara langsung memengaruhi kemampuan interaksi molekuler pelarut dengan senyawa target. Dalam konteks isolasi organosulfur bawang putih, pelarut etanol menempati posisi urgensi tertinggi karena karakteristik fisikokimianya yang sangat ideal. Karakteristik fisikokimia tersebut memberikan keunggulan tersendiri dalam memfasilitasi penarikan zat aktif secara optimal tanpa merusak struktur asli suatu senyawa. Melalui pemahaman sifat fisikokimia pelarut, mekanisme biokimia ekstraksi dapat dikendalikan dengan tingkat presisi yang tinggi.

6

Etanol dikenal secara luas dalam dunia kimia bahan alam sebagai pelarut universal yang memiliki sifat dwikutub atau amfifilik. Sifat dualisme kelarutan etanol tersebut memberikan keuntungan luar biasa karena memungkinkan etanol menarik spektrum senyawa aktif yang sangat luas sekaligus. Struktur molekul etanol mengandung gugus hidroksil yang bersifat polar serta gugus alkil yang bersifat nonpolar dalam satu kesatuan ikatan. Ketika diaplikasikan pada umbi bawang putih, fleksibilitas polaritas etanol bekerja secara optimal menangkap berbagai variasi kelompok senyawa kimia.

Etanol mampu melarutkan komponen polar seperti beberapa jenis glikosida dan flavonoid, serta komponen semi-polar hingga nonpolar seperti senyawa organosulfur. Keunggulan selektivitas yang luas suatu pelarut memastikan bahwa ekstrak total yang didapatkan merepresentasikan kekayaan metabolit asli tanaman secara utuh. Karakteristik dwikutub etanol menghilangkan batasan kaku pelarut cair konvensional yang biasa hanya terbatas pada satu spektrum polaritas saja. Hal tersebut menjadikan etanol sebagai cairan penyari yang sangat efisien untuk riset biomedis multi-komponen. Berdasarkan perspektif biokimia seluler, molekul etanol menunjukkan kemampuan penetrasi yang sangat superior melintasi dinding sel tanaman yang kaku. Jaringan umbi bawang putih dilindungi oleh struktur selulosa dan pektin yang sering menghalangi keluarnya cairan sitoplasma. Etanol mampu mengganggu stabilitas ikatan hidrogen pada dinding sel tersebut, lalu memicu terjadinya pelunakan struktur mikroseluler secara bertahap. Kemampuan penetrasi yang dalam mampu mempercepat kontak pelarut dengan senyawa target di dalam sel.

Selain melunakkan dinding sel, etanol bekerja lebih jauh dengan cara memicu lisis atau kebocoran lapisan lipid bilayer membran plasma. Efek pelarutan lipid membran tersebut menyebabkan sel kehilangan sifat permeabilitas selektif, sehingga isi sitoplasma dapat mengalir keluar dengan bebas. Proses perpindahan massa zat terlarut dari dalam sel ke dalam

cairan penyari berlangsung secara cepat dan efisien tanpa hambatan barikade seluler. Konsep ini didasarkan pada prinsip kelarutan di mana molekul pelarut akan mengelilingi dan mengikat solut secara seimbang.

Penggunaan etanol juga memberikan jaminan keamanan biologis yang sangat esensial bagi produk akhir sediaan farmasi manusia. Bila dibandingkan dengan pelarut organik lain seperti metanol, kloroform, atau heksana, diketahui bahwa etanol memiliki indeks toksisitas residu yang jauh lebih rendah. Hal tersebut sangat penting karena sisa pelarut organik yang beracun dapat memicu kerusakan jaringan tubuh saat dikonsumsi oleh pasien. Profil biokompatibilitas yang ramah menjadi alasan utama etanol banyak dipilih dalam industri obat herba.

Karakteristik etanol yang relatif aman membuat regulasi pengawasan obat di berbagai negara menempatkan etanol sebagai pelarut pilihan utama untuk industri obat herbal terstandar. Peneliti tidak perlu mengkhawatirkan dampak akumulasi residu beracun yang dapat mendegradasi nilai terapeutik dari ekstrak bawang putih itu sendiri. Kepastian aspek keamanan tersebut dapat mengurangi jalur birokrasi pengujian toksisitas pelarut yang sering kali rumit dan memakan biaya besar. Fleksibilitas ini meningkatkan efisiensi pengembangan produk fitofarmaka dari laboratorium ke skala industri. Sifat fisik etanol yang mudah menguap pada suhu yang relatif rendah juga memberikan efisiensi teknis yang tinggi saat memasuki tahapan purifikasi. Titik didih etanol yang berada di sekitar 78 °C memudahkan proses pemisahan cairan penyari dari zat terlarut menggunakan alat *rotary evaporator*. Penguapan dapat berlangsung cepat tanpa menuntut paparan energi panas yang ekstrem pada kompartemen sampel. Kebutuhan energi panas yang rendah (biasa kurang dari 50 °C) memberikan keuntungan ekonomis dalam operasional laboratorium. Kemudahan penguapan pada suhu rendah secara langsung melindungi integritas struktur senyawa bioaktif yang bersifat termosensitif atau tidak tahan panas. Banyak senyawa

organosulfur di dalam bawang putih termasuk alisin, mudah mengalami kerusakan atau polimerisasi sekunder jika terpapar suhu tinggi. Efisiensi termal pelarut etanol menjaga agar molekul-molekul aktif tersebut tetap berada dalam bentuk asli yang berkhasiat tinggi, tanpa terjadi perubahan akibat terjadi kerusakan karena pengaruh suhu. Hal tersebut dapat menjamin bahwa daya hambat ekstrak terhadap bakteri patogen tetap berada pada level maksimal. Etanol juga bertindak sebagai agen fiksasi dan penstabil yang handal bagi ketahanan stabilitas kimiawi alisin selama proses maserasi berlangsung. Senyawa alisin yang baru terbentuk dari reaksi enzimatis aliinase dikenal memiliki waktu paruh yang relatif singkat dan mudah terdegradasi. Kehadiran molekul etanol di sekeliling alisin membentuk lingkungan mikro yang mampu memperlambat laju degradasi hidrolitik senyawa tersebut. Efek stabilisasi tersebut sangat penting untuk mempertahankan kadar zat aktif selama proses perendaman (maserasi) simplisia.

Sifat antimikroba alami yang melekat pada cairan etanol berkonsentrasi tinggi turut memberikan perlindungan tambahan selama masa perendaman sampel. Proses ekstraksi konvensional seperti maserasi sering kali membutuhkan waktu berhari-hari di dalam wadah tertutup. Pelarut etanol secara efektif mencegah kontaminasi dan pertumbuhan jamur maupun bakteri pembusuk yang dapat merusak kualitas simplisia bawang putih. Perlindungan tersebut memastikan fasa ekstraksi berjalan dalam kondisi yang bersih dan bebas kontaminan luar. Pencegahan aktivitas mikroba kontaminan memastikan bahwa profil senyawa aktif ekstrak yang didapatkan murni berasal dari metabolit bawang putih. Tidak adanya senyawa asing hasil metabolit sekunder bakteri luar menjaga akurasi data pengujian aktivitas antibakteri pada tahap riset selanjutnya. Kebersihan fasa ekstraksi menjadi standar baku yang tidak boleh ditawar dalam metodologi riset biomedis. Sehingga akurasi data yang dihasilkan menjadi lebih valid dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Urgensi pemilihan etanol juga didukung oleh kemampuannya untuk

menginaktivasi kerja enzim-enzim hidrolitik tanaman secara cepat setelah lisis sel terjadi. Beberapa enzim intraseluler bawang putih dapat memicu perombakan berlebih pada senyawa fenolik jika tidak segera dihentikan aktivitas katalisnya. Etanol mendenaturasi protein enzim tersebut secara reversibel, sehingga komposisi senyawa target tetap terjaga pada kadar maksimal. Pencegahan degradasi enzimatis tersebut mampu menjaga kestabilan mutu simplisia. Ketersediaan komersial pelarut etanol dengan berbagai tingkat kemurnian (*grade*) yang melimpah di pasaran mempermudah keberlanjutan riset skala laboratorium hingga industri. Produsen obat herbal dapat memperoleh pasokan etanol teknis maupun *pharmaceutical grade* dengan harga yang jauh lebih ekonomis dibandingkan pelarut spesifik lain. Faktor keterjangkauan ekonomi menjamin efisiensi biaya operasional produksi dalam jangka panjang. Etanol juga memiliki keunggulan fleksibilitas karena dapat diencerkan menggunakan akuades untuk membentuk berbagai variasi tingkat konsentrasi sesuai kebutuhan spesifik senyawa target.

B. Teori Kelarutan dan Polaritas Senyawa Bioaktif Bawang Putih

Proses ekstraksi senyawa bioaktif dari matriks seluler tanaman pada dasarnya dikendalikan oleh hukum-hukum fisikokimia kelarutan yang sangat fundamental. Keberhasilan penarikan metabolit sekunder dari jaringan umbi bawang putih (*Allium sativum*) ditentukan oleh kecocokan sifat termodinamika antara molekul pelarut dan molekul target. Secara kimia, fenomena tersebut diatur oleh prinsip kelarutan universal *like dissolves like* yang menyatakan bahwa suatu senyawa akan larut secara optimal pada pelarut yang memiliki tingkat polaritas serupa. Apabila terdapat perbedaan nilai polaritas yang terlalu ekstrem antara kedua komponen tersebut, interaksi intermolekuler tidak akan terbentuk dan proses difusi zat aktif akan mengalami kegagalan. Tingkat polaritas suatu senyawa secara struktural ditentukan oleh distribusi muatan elektron yang tidak merata di dalam molekul karena ada perbedaan elektronegativitas antar atom penyusun molekul

tersebut. Keberadaan gugus fungsi spesifik seperti gugus hidroksil, karbonil, karboksil, atau ikatan sulfur-oksigen menciptakan momen dipol permanen yang membentuk sifat polar pada molekul. Pada umbi bawang putih, keragaman struktur metabolit sekunder menghasilkan spektrum polaritas yang sangat luas, mulai dari molekul yang bersifat hidrofilik (polar) hingga senyawa yang cenderung lipofilik (nonpolar). Kompleksitas profil kimia yang ada menuntut pemahaman teoritis mendalam mengenai konstanta dielektrik dari cairan penyari yang dapat diaplikasikan. Senyawa organosulfur awal di dalam umbi bawang putih segar seperti asam amino aliin (S-allylcysteine sulfoxide) memiliki karakteristik polaritas yang cenderung tinggi. Kehadiran gugus amino, karboksilat, dan ikatan sulfoksida yang kaya akan elektron bebas membuat aliin bersifat hidrofilik dan larut sempurna dalam lingkungan air atau pelarut polar. Polaritas yang tinggi menjaga molekul aliin tetap berada di dalam kompartemen sitosol sel tumbuhan dalam kondisi distabilkan oleh molekul-molekul air di sekelilingnya. Konsep kelarutan membuktikan bahwa fasa hidrofilik mengontrol keberadaan senyawa prekursor sebelum terjadikerusakan mekanis jaringan. Sebaliknya, ketika jaringan umbi bawang putih mengalami lisis dan mengaktifkan enzim alinase, transformasi kimia akan mengubah aliin menjadi alisin (diallyl thiosulfinate). Perubahan struktur secara dramatis menggeser profil polaritas senyawa dari yang semula polar menjadi semi-polar dan cenderung lipofilik. Kehilangan gugus asam amino dan karboksilat menyebabkan molekul alisin bawang putih lebih mudah berinteraksi dengan pelarut-pelarut organik yang memiliki konstanta dielektrik menengah. Sifat semi-polar alisin tersebut menjadikannya sangat reaktif dan fleksibel untuk menembus struktur lapisan lipid bilayer membran sel bakteri patogen selama aplikasi klinis. Degradasi lebih lanjut dari alisin akibat pengaruh suhu atau interaksi pelarut akan menghasilkan berbagai golongan senyawa turunan sulfur sekunder seperti dialil sulfida (DAS), dialil disulfida (DADS), dan dialil trisulfida (DATS). Kelompok sebatian

tersebut memiliki karakteristik nonpolar yang sangat kental karena strukturnya hanya didominasi oleh rantai hidrokarbon alifatik dan jembatan sulfur tanpa memiliki gugus fungsi hidrofilik. Senyawa-senyawa nonpolar volatil tidak dapat larut di dalam air, melainkan menuntut fasa hidrofobik untuk mengikat ekor-ekor hidrokarbonnya secara stabil. Prinsip ini menjelaskan mengapa minyak atsiri bawang putih hanya dapat ditarik secara sempurna menggunakan fasa pelarut organik non-spesifik. Selain golongan organosulfur, umbi bawang putih juga menyimpan metabolit sekunder non-sulfur seperti golongan fenolik dan flavonoid yang memiliki polaritas bervariasi. Senyawa fenolik sederhana umumnya bersifat polar hingga semi-polar akibat keberadaan gugus hidroksil aromatik yang mampu membentuk ikatan hidrogen dengan molekul pelarut. Tingkat kelarutan flavonoid di dalam cairan penyari sangat dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksil bebas serta ada tidaknya ikatan glikosida (molekul gula) yang menempel pada inti sterolnya. Flavonoid dalam bentuk aglikon (tanpa gugus gula) cenderung bersifat semi-polar, sedangkan flavonoid glikosida bersifat sangat polar. Saponin steroid yang terkandung di dalam bawang putih seperti erubosida B menunjukkan fenomena kelarutan yang unik karena memiliki struktur amfifilik yang menggabungkan dua sifat bertolak belakang. Molekul saponin mengintegrasikan bagian aglikon steroid yang bersifat hidrofobik (nonpolar) dengan rantai oligosakarida yang bersifat hidrofilik (polar) dalam satu kesatuan struktur. Sifat dualisme tersebut menyebabkan saponin bertindak sebagai surfaktan alami yang mampu menurunkan tegangan antarmuka antara fasa polar dan nonpolar. Teori polaritas menjelaskan mengapa saponin dapat larut baik dalam air maupun alkohol, serta mampu membentuk sediaan emulsi atau busa konstan saat dikocok. Pelarut etanol berkonsentrasi tinggi (seperti etanol 70% atau 96%) dipilih dalam ekstraksi bawang putih karena memiliki nilai konstanta dielektrik ideal yang mampu menjembatani seluruh spektrum polaritas tersebut. Etanol sebagai pelarut semi-polar memiliki molekul dwi-kutub yang fleksibel; gugus

hidroksilnya (-OH) siap membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa polar, sementara gugus etilnya (-C₂H₅) berinteraksi via gaya van der Waals dengan senyawa nonpolar. Fleksibilitas termodinamika memungkinkan etanol menarik senyawa alisin yang semi-polar, polifenol yang polar, sekaligus mengikat fraksi organosulfur nonpolar secara simultan dalam satu fasa cairan penyari. Proses penarikan senyawa bioaktif bawang putih dimulai ketika molekul pelarut etanol bergerak mendekati permukaan simplisia dan membasahi dinding sel tanaman. Gaya kohesi antar molekul pelarut akan digantikan oleh gaya adhesi antara molekul pelarut dengan senyawa target di dalam sel (solvasi). Molekul etanol akan membentuk lapisan pelindung (*solvation shell*) yang mengelilingi setiap molekul metabolit sekunder, memutuskan ikatan intraseluler lama, dan menarik senyawa aktif tersebut keluar menuju media cair. Efisiensi fasa solvasi ini sangat bergantung pada tingkat kerapatan molekul pelarut dan energi kinetik sistem ekstraksi. Perpindahan massa zat terlarut dari dalam matriks tanaman ke dalam cairan pelarut diatur oleh Hukum Difusi Fick yang menyatakan bahwa laju difusi berbanding lurus dengan gradien konsentrasi. Selama proses maserasi, molekul bioaktif bawang putih yang telah tersolvasi oleh etanol akan bermigrasi dari area berkonsentrasi tinggi di dalam sel menuju area berkonsentrasi rendah di media luar. Pelarut etanol menjaga fluiditas sistem difusi tetap berjalan konstan dengan cara mencegah terjadinya pengendapan dini zat aktif. Pengadukan secara periodik selama ekstraksi berfungsi mempertahankan gradien konsentrasi agar transfer massa tidak mencapai titik jenuh terlalu cepat. Kajian termodinamika kelarutan juga membuktikan bahwa energi bebas Gibbs (ΔG) dari proses pencampuran antara pelarut etanol dan metabolit bawang putih harus bernilai negatif agar pelarutan terjadi secara spontan. Nilai negative tercapai apabila entalpi pencampuran (ΔH) bernilai eksotermik atau perubahan entropi (ΔS) sistem mengalami peningkatan akibat pemecahan struktur kristal zat terlarut. Fleksibilitas ikatan hidrogen pada pelarut etanol meminimalkan kebutuhan energi aktivasi termal, sehingga

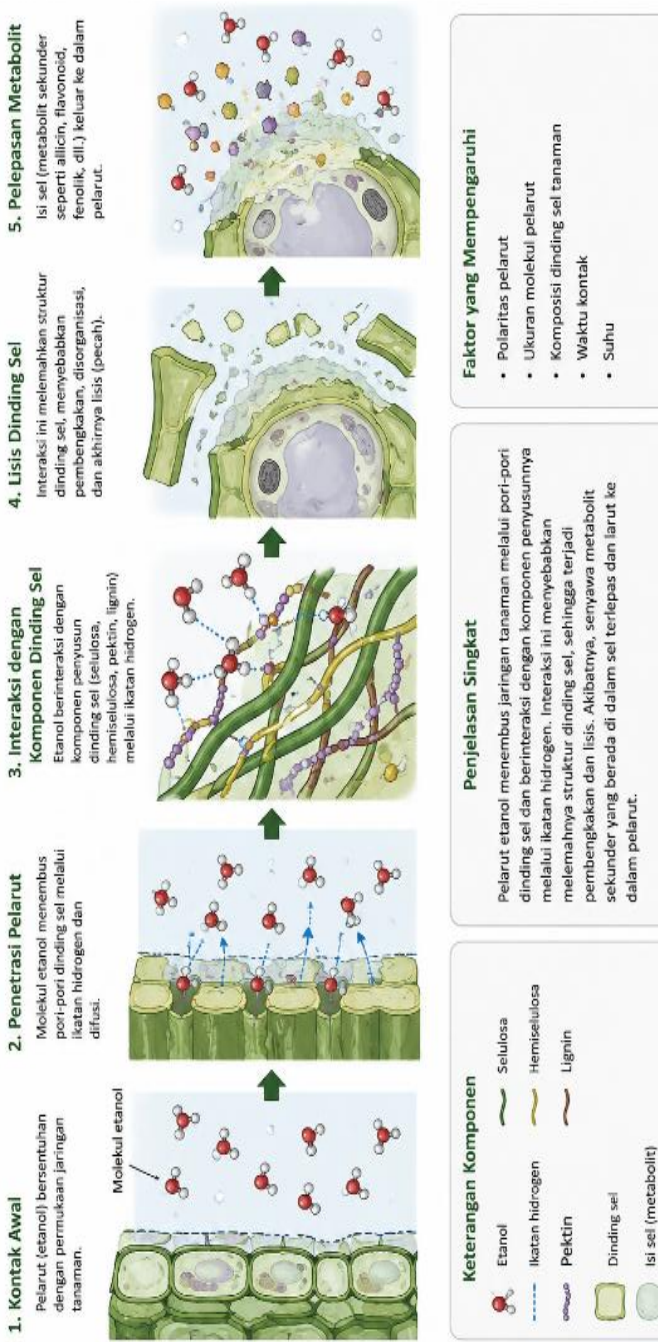
28

88

pemutusan ikatan makromolekul tanaman dapat berlangsung secara efisien bahkan pada suhu ruang. Hal tersebut menjelaskan mengapa metode maserasi dingin menggunakan etanol tetap menghasilkan rendemen yang melimpah. Komparasi efisiensi kelarutan menunjukkan bahwa penggunaan air murni sebagai pelarut tunggal tidak direkomendasikan untuk isolasi zat aktif bawang putih berspektrum luas. Meskipun air sangat polar dan efektif menarik alin, air tidak mampu melarutkan golongan senyawa sulfur sekunder dan flavonoid aglikon yang bersifat hidrofobik. Selain itu, tingginya konstanta dielektrik air memicu hidrolisis berlebih yang mempercepat kerusakan struktur alisin menjadi senyawa yang tidak berkhasiat. Kelemahan pelarut air tersebut yang menyebabkan perbedaan pemisahan metode seduhan tradisional dari standar ekstraksi ilmiah industri farmasi modern. Di sisi lain, penggunaan pelarut organik nonpolar murni seperti heksana atau kloroform juga memiliki batasan kaku karena hanya mampu menarik fraksi lipid dan minyak atsiri nonpolar. Senyawa fenolik, flavonoid glikosida, dan saponin yang memiliki urgensi farmakologis tinggi akan tertinggal di dalam residu simplisia karena tidak mampu larut dalam media nonpolar. Ketidakmampuan pelarut nonpolar dalam membentuk ikatan hidrogen membatasi ruang lingkup eksplorasi fitokimia total dari bawang putih. Oleh karena itu, penentuan fasa semi-polar melalui pelarut etanol tetap menjadi pilihan paling logis secara teoritis dan praktis. Pemahaman mendalam mengenai teori kelarutan dan polaritas memberikan landasan ilmiah bagi peneliti untuk memanipulasi konsentrasi pelarut etanol guna menyasar senyawa spesifik. Sebagai contoh, pengenceran etanol dengan penambahan air (membentuk etanol 70%) akan meningkatkan konstanta dielektrik medium, sehingga lebih selektif untuk menarik golongan saponin dan fenolik polar. Sementara itu, penggunaan etanol murni (96%) akan menggeser sifat medium menjadi lebih nonpolar, yang sangat ideal untuk mengisolasi alisin dan turunan organosulfur lipofilik. Kontrol polaritas pelarut tersebut bertindak sebagai alat

standardisasi kimia awal dari luar laboratorium. Secara keseluruhan, prinsip biokimia kelarutan menjamin bahwa ekstrak etanol bawang putih yang dihasilkan memiliki diversitas komponen aktif yang kaya dan seimbang. Sinergisme terapeutik yang kuat antara senyawa sulfur, fenolik, flavonoid, dan saponin hanya dapat dicapai jika seluruh zat tersebut berhasil terlarut bersama dalam satu fasa cair. Melalui penerapan teori polaritas yang presisi, variabilitas kualitas ekstrak akibat kesalahan penanganan dapat dieliminasi secara total. Evaluasi sifat kelarutan senyawa aktif memastikan sediaan herbal yang diproduksi memenuhi indikator mutu dan efikasi klinis secara objektif.

C. Mekanisme Penetrasi Pelarut dan Lisis Dinding Sel Tanaman



Gambar 3.1 Tahapan Penetrasi Pelarut Etanol dan Lisis Dinding Sel dalam Ekstraksi Senyawa Bioaktif Tanaman

85

Berdasarkan Gambar 3.1 Proses ekstraksi senyawa bioaktif dari umbi bawang putih (*Allium sativum*) pada dasarnya merupakan fenomena perpindahan massa yang dikendalikan oleh peristiwa mekanis dan termodinamika pada tingkat seluler. Keberhasilan penarikan metabolit sekunder berspektrum luas sangat bergantung pada kemampuan cairan penyari untuk melewati berbagai barikade struktural pelindung tanaman. Dalam ekosistem alamnya, sel-sel umbi bawang putih dirancang memiliki kekuatan mekanis yang kokoh guna melindungi cadangan makanan dari tekanan eksternal dan serangan patogen. Sehingga fasa awal dari teknik ekstraksi maserasi harus mampu melumpuhkan sistem pertahanan struktural pelindung tanaman agar cairan penyari dapat berkontak langsung dengan target zat aktif di dalam sitoplasma. Barikade luar yang paling tebal dan kaku pada jaringan umbi bawang putih adalah struktur dinding sel tanaman. Dinding sel tersusun atas matriks makromolekul kompleks yang rapat, meliputi mikrofibril selulosa, hemiselulosa, serta senyawa pektin yang bertindak sebagai perekat antar-sel pada lapisan lamela tengah. Kerangka selulosa yang saling silang menyediakan rigiditas tinggi sehingga sel tanaman tidak mudah mengalami perubahan bentuk atau pecah akibat tekanan osmotik internal. Komponen pektin yang bersifat hidrofilik di sekelilingnya juga berfungsi sebagai pengatur aliran air dan molekul kecil, sekaligus menjadi penghalang mekanis yang membatasi difusi bebas dari molekul-molekul organik berukuran besar. Pelarut etanol berkonsentrasi tinggi memiliki urgensi fungsional yang sangat superior dalam menembus barikade makromolekul dinding sel tersebut dibandingkan dengan pelarut air murni. Ketika simplisia umbi bawang putih direndam di dalam media etanol, molekul pelarut yang berukuran kecil dan lincah akan segera membasahi permukaan luar jaringan tanaman. Etanol bekerja dengan cara menyusup ke dalam celah-celah matriks pektin dan hemiselulosa melalui pori-pori mikroskopis dinding sel. Sifat dwikutub dari etanol memungkinkannya untuk memutuskan ikatan hidrogen

internal yang menstabilkan jalinan serat-serat selulosa, sehingga memicu pengenduran struktur dinding sel secara bertahap. Proses penyusupan molekul etanol ke dalam jaringan tanaman ini diikuti oleh fenomena pembengkakan sel (*swelling*) akibat penyerapan cairan penyari ke dalam ruang antarsel dan matriks dinding sel. Pembengkakan sel tersebut menghasilkan tekanan hidrostatik lokal yang mendorong serat-serat selulosa meregang melampaui batas elastisitas mekanisnya. Matriks pektin yang semula mengikat kuat dinding sel tetangga dapat mengalami pelunakan dan pelarutan parsial akibat interaksi solvasi oleh gugus hidroksil etanol. Akibatnya, integritas struktural dinding sel umbi bawang putih menjadi rapuh, melar, dan kehilangan kerapatan alami, membuka jalan bagi pelarut untuk masuk lebih dalam menuju lapisan pertahanan sel berikutnya. Setelah berhasil melewati dinding sel yang telah melunak, molekul pelarut etanol langsung berhadapan dengan sistem pertahanan kedua, yaitu membran plasma sel. Membran plasma memiliki struktur yang sangat berbeda dengan dinding sel karena tersusun atas lapisan ganda fosfolipid (*phospholipid bilayer*) yang diselingi oleh protein integral dan perifer. Sifat alami dari membran plasma ini adalah semi-permeabel dan selektif, yang berfungsi mengontrol secara selektif keluar-masuk ion dan molekul organik dalam menjaga homeostasis internal sel. Karakteristik hidrofobik yang dominan pada bagian ekor asam lemak fosfolipid membuat membran sel menjadi penghalang yang sangat efektif terhadap penetrasi senyawa-senyawa hidrofilik dari luar.

Di sinilah letak keunggulan biokimia dari gugus fungsi alkil atau etil ($-C_2H_5$) nonpolar yang melekat pada molekul pelarut etanol. Sifat lipofilik dari gugus etil tersebut memungkinkan molekul etanol larut secara spontan ke dalam fasa hidrofobik dari lapisan ganda fosfolipid membran. Etanol masuk di antara ekor-ekor asam lemak, mengganggu gaya van der Waals yang menyatukan molekul-molekul lipid tersebut, dan meningkatkan fluiditas membran secara drastis. Penumpukan molekul etanol di dalam sela-sela fosfolipid

memicu ketidakstabilan mekanis yang berujung pada disorganisasi struktural atau kekacauan posisi spasial dari lipid penyusun membran sel. Gangguan mekanis yang intensif pada lapisan lipid tersebut mengakibatkan membran plasma kehilangan sifat permeabilitas selektifnya secara permanen, yaitu sebuah fenomena yang dikenal sebagai lisis membran. Membran plasma mengalami perforasi atau pembentukan pori-pori abnormal dalam ukuran makro yang dapat merusak barikade atau sistem kompartemen seluler. Seiring berjalannya waktu perendaman suatu bahan alam dengan pelarut etanol, kerusakan lipid bilayer sel oleh pelarut dapat meluas hingga menyebabkan kehancuran total dari struktur membran plasma (*solubilisasi membran*). Membran penahan sel yang mengalami lisis, menyebabkan seluruh isi sitoplasma yang kaya akan metabolit sekunder tidak lagi tersimpan di dalam ruangan seluler yang sempit. Lisis struktural sel tersebut secara logis berakibat hingga menghancurkan membran organel internal lainnya, seperti membran vakuola (tonoplas). Di dalam sel umbi bawang putih yang utuh, vakuola merupakan tempat penyimpanan utama bagi enzim-enzim hidrolitik tertentu, sedangkan senyawa prekursor seperti alisin berada di dalam sitoplasma. Hancurnya membran tonoplas akibat penetrasi etanol memicu terjadi kontak mekanis langsung antara isi vakuola dan isi sitoplasma di bawah pengaruh pelarut. Fenomena tersebut memfasilitasi terjadinya reaksi enzimatik lokal yang cepat sekaligus memastikan bahwa seluruh zat aktif terlarut bebas di dalam ruang sel yang telah hancur.

Hancurnya barikade dinding sel dan membran plasma membuka akses penuh bagi pelarut etanol untuk mengelilingi seluruh molekul metabolit sekunder target, seperti alisin, flavonoid, fenolik, dan saponin. Proses pengikatan solut oleh molekul pelarut berlangsung melalui pembentukan lapisan solvasi (*solvation shell*) yang stabil. Gugus hidroksil etanol membentuk ikatan hidrogen dengan gugus polar dari senyawa target, sementara gugus etilnya berikatan dengan bagian nonpolar solut. Proses solvasi yang efisien memutuskan ikatan-

ikatan adsorpsi lemah yang semula menambatkan metabolit sekunder pada sisa-sisa organel sel atau protein structural tanaman. Setelah molekul bioaktif bawang putih terlepas dan tersolvasi secara sempurna di dalam cairan internal sel, proses perpindahan massa sel memasuki tahapan difusi ekstraseluler. Perbedaan konsentrasi zat terlarut yang sangat kontras antara bagian dalam sel yang padat dan media pelarut luar yang masih murni bertindak sebagai gaya penggerak (*driving force*) utama. Berdasarkan Hukum Difusi Fick, molekul zat aktif yang telah diikat oleh etanol akan bermigrasi secara spontan melewati dinding sel yang telah robek menuju fasa cair eksternal. Pelarut etanol menjaga kelancaran aliran difusi dengan cara mempertahankan viskositas medium tetap ideal bagi pergerakan kinetik molekul. Faktor mekanik seperti pengadukan secara periodik atau aplikasi getaran ultrasonik selama proses ekstraksi dapat mempercepat laju difusi ekstraseluler. Pengadukan berfungsi meratakan konsentrasi zat aktif di media luar, sehingga gradien konsentrasi antara antarmuka simplisia dan pelarut tetap terjaga pada level maksimal. Hal tersebut mencegah terjadinya kejenuhan lokal pada lapisan batas (*boundary layer*) di sekeliling fragmen umbi bawang putih. Melalui pemeliharaan gradien konsentrasi yang konstan, transfer massa zat aktif dari dalam pori-pori sel yang lisis menuju *bulk solution* dapat berjalan lancar hingga mencapai titik kesetimbangan termodinamika.

Kajian kinetika ekstraksi membuktikan bahwa efisiensi penetrasi pelarut dan lisis dinding sel sangat dipengaruhi oleh ukuran partikel atau derajat kehalusan serbuk simplisia bawang putih. Penggerusan umbi menjadi fragmen yang lebih kecil secara mekanik mampu memotong jalur difusi yang harus ditempuh oleh pelarut untuk mencapai bagian sel terdalam. Selain itu, pengecilan ukuran partikel dapat memperluas total luas permukaan kontak antara padatan simplisia dan cairan etanol. Semakin luas permukaan kontak yang tersedia, semakin banyak jumlah sel yang dapat ditembus oleh pelarut maka sel mengalami lisis secara simultan dalam satu satuan waktu

tertentu, sehingga mempercepat pencapaian rendemen maksimal. Namun, penggerusan simplisia bawang putih tidak boleh dilakukan secara berlebihan hingga menjadi bubuk yang terlalu halus karena dapat menimbulkan kendala teknis pada tahap pemisahan. Partikel yang terlalu halus cenderung membentuk massa kompak seperti lumpur saat terkena pelarut etanol, yang menghambat aliran sirkulasi cairan penyari di antara celah-celah partikel. Hambatan mekanis tersebut menurunkan efisiensi gradien konsentrasi dan mempersulit proses penyaringan akhir (filtrasi) karena menyumbat pori-pori kertas saring. Oleh karena itu, standardisasi ukuran partikel simplisia umbi bawang putih harus dikontrol secara ketat pada rentang ukuran yang optimal demi menjamin kelancaran penetrasi.

Penggunaan pelarut etanol juga memberikan proteksi biokimia tambahan dengan cara mendenaturasi enzim-enzim atau pemutus sekunder yang dapat merusak struktur zat aktif setelah lisis sel terjadi. Ketika dinding sel rusak, enzim oksidase dalam tanaman sering ikut terlepas dan dapat mendegradasi senyawa fenolik berharga jika berada dalam media air. Etanol konsentrasi tinggi bekerja dengan cepat merusak struktur kuaterner dari protein enzim oksidase tersebut, sehingga menyebabkan kehilangan aktivitas katalitis secara permanen sebelum sempat merusak sediaan target. Fiksasi enzimatis oleh etanol dapat menjamin kemurnian profil kimia dari ekstrak total bawang putih yang dihasilkan.

Secara keseluruhan, visualisasi penetrasi pelarut dan lisis dinding sel memberikan pemahaman yang logis atas keunggulan pelarut etanol dalam ekstraksi biomedis. Seluruh tahapan, mulai dari pelunakan selulosa, pembengkakan jaringan, pelarutan lipid membran plasma, hingga fasa solvasi dan difusi molekuler, bekerja secara berkesinambungan dan deterministik. Pemahaman komprehensif mengenai fenomena mikro-seluler mampu memisahkan pendekatan *trial-and-error* dari metodologi standardisasi riset kefarmasian modern. Pengontrolan parameter mekanis seluler memastikan bahwa

sediaan herbal yang diproduksi memiliki kualitas, keamanan, dan efikasi yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

D. Perbandingan Etanol dengan Pelarut Polar dan Nonpolar Lain

ASPEK	ETANOL	AIR	METANOL	n-HEKSANA	KLOROFORM
STRUKTUR KIMIA					
KEPOLARAN	Polar	Sangat Polar	Polar	Nonpolar	Semi-Polar
KEMAMPUAN MELARUTKAN SENYAWA					
SELEKTIVITAS TERHADAP METABOLIT RUMAH KUNYU	✓	✓	✓	✓	✓
KEAMANAN & TOKSISITAS	✓	✓	⚠	⚠	⚠
TTIK DIDIH (°C)	78,4	100	64,7	68,7	61,2
KELEBIHAN UTAMA					
KETERBATASAN					

Aman + relatif Aman Toksik sedang Toksik tinggi Melarutkan senyawa nonpolar Melarutkan senyawa polar

Gambar 3.2 Perbandingan Karakteristik Etanol dengan Pelarut Polar dan Nonpolar dalam Proses Ekstraksi Senyawa Bioaktif

1. Karakteristik Fisikokimia dan Dinamika Selektivitas Pelarut

Konstanta dielektrik merupakan indikator utama yang menentukan kemampuan suatu pelarut untuk menurunkan gaya elektrostatik di antara ion-ion zat terlarut. Etanol memiliki konstanta dielektrik intermediet sebesar 24.5 pada suhu 25°C, sehingga menempatkan etanol sebagai pelarut polar protik dengan fleksibilitas tinggi. Nilai tersebut membuat etanol mampu melarutkan senyawa dengan rentang polaritas yang luas. Sifat amfifilik etanol berasal dari keberadaan gugus etil yang bersifat hidrofobik dan gugus hidroksil yang bersifat hidrofilik, perbandingan sifat atau karakter etanol dengan berbagai pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi senyawa bioaktif bahan alam dapat dilihat pada Gambar 3.2 Air menempati posisi ekstrem sebagai pelarut polar protik dengan konstanta dielektrik tertinggi, yaitu 78.54. Air memiliki nilai konstanta dielektrik yang tinggi, sehingga memberikan air kapasitas solvasi yang luar biasa untuk senyawa-senyawa ionik dan sangat polar. Namun, air memiliki keterbatasan besar dalam menarik senyawa semipolar seperti flavonoid aglikon. Sebaliknya, etanol mampu mendekati efisiensi air dalam melarutkan komponen polar sekaligus mempertahankan afinitas terhadap komponen semipolar. Hal tersebut membuat spektrum komponen kimia dalam ekstrak etanol jauh lebih kaya daripada ekstrak air. Metanol sering menjadi pembanding utama etanol sesama kelompok alkohol karena memiliki struktur molekul yang mirip. Metanol memiliki konstanta dielektrik 32.7 dan momen dipol 1.70 D, sedikit lebih tinggi daripada etanol. Karakteristik fisikokimia tersebut memberikan metanol viskositas yang lebih rendah dan kemampuan penetrasi dinding sel tumbuhan yang sangat cepat. Meskipun metanol sangat efisien untuk ekstraksi analisis laboratorium, regulasi industri membatasi penggunaannya. Sifat toksisitas akut metanol terhadap

sistem saraf manusia menjadikan metanol tidak layak untuk produk konsumsi.

Aseton mewakili kelompok pelarut polar aprotik dengan konstanta dielektrik sebesar 20.7 yang mendekati etanol. Perbedaan mendasar antara etanol dan aseton terletak pada ketiadaan donor ikatan hidrogen pada struktur molekul aseton. Aseton sangat unggul dalam mengekstraksi senyawa lipofilik rendah dan pigmen tanaman seperti klorofil serta karotenoid. Etanol mengungguli aseton ketika target ekstraksi melibatkan senyawa polifenol berbobot molekul tinggi. Gugus hidroksil pada etanol memfasilitasi pembentukan ikatan hidrogen yang stabil dengan gugus fenolik solut. Etil asetat adalah pelarut polar aprotik lain dengan nilai konstanta dielektrik yang jauh lebih rendah, yaitu 6.02. Etil asetat secara spesifik menarik senyawa-senyawa semipolar, terutama fraksi flavonoid bebas dan stilbena. Etanol sering dikombinasikan secara sekuensial dengan etil asetat untuk melakukan fraksinasi terarah. Perbandingan kedua pelarut tersebut menunjukkan bahwa etanol bertindak sebagai penjaring universal pada tahap awal, sedangkan etil asetat berfungsi sebagai pemurni fasa semipolar pada tahapan isolasi lanjutan. Pelarut nonpolar seperti n-heksana berada pada spektrum yang berlawanan dengan etanol. n-Heksana memiliki konstanta dielektrik yang sangat rendah, yaitu 1.88, dengan momen dipol murni nol. Mekanisme pelarutan n-heksana murni mengandalkan gaya dispersi London atau interaksi Van der Waals. n-heksana sangat selektif untuk lipid netral, asam lemak, dan minyak atsiri, sementara etanol absolut tidak dapat melarutkan fasa minyak tebal tersebut secara efisien karena perbedaan parameter kelarutan yang terlalu besar. Kloroform merupakan pelarut nonpolar berpenetrasi tinggi dengan konstanta dielektrik sebesar 4.81 dan momen dipol 1.01 D. Kloroform sering digunakan untuk isolasi alkaloid murni dalam bentuk basa bebas. Kelemahan utama kloroform adalah sifat karsinogenik dan toksisitas organ

yang tinggi. Etanol menawarkan alternatif yang jauh lebih aman bagi lingkungan dan praktikan berbasis prinsip kimia hijau (*green chemistry*). Keamanan penggunaan etanol menjadikannya standar utama dalam metodologi ekstraksi modern yang berkelanjutan.

2. Parameter Termal, Efisiensi Energi, dan Kinetika Massa

Titik didih merupakan parameter krusial dalam menentukan efisiensi energi pada proses evaporasi dan distilasi pasca-ekstraksi. Etanol mendidih pada suhu 78.37°C di bawah tekanan atmosfer standar. Titik didih yang moderat tersebut jauh lebih menguntungkan daripada air yang membutuhkan suhu 100°C. Konsumsi energi untuk menguapkan etanol secara signifikan lebih rendah daripada energi yang dibutuhkan untuk menguapkan air. Sehingga menurunkan biaya operasional total pada skala kecil maupun skala industri. Suhu penguapan pelarut berpengaruh langsung pada stabilitas termal senyawa aktif yang diekstraksi. Banyak senyawa metabolit sekunder, seperti antosianin dan beberapa jenis glikosida, bersifat termolabil atau mudah rusak pada suhu tinggi. Proses pemekatan ekstrak air rentan memicu degradasi termal akibat paparan panas yang lama. Etanol memungkinkan proses evaporasi berjalan pada suhu rendah, terutama jika dikombinasikan dengan sistem tekanan tereduksi (*rotary evaporator*). Pendekatan tersebut mampu menjaga integritas struktural dan bioaktivitas dari senyawa target. Aspek viskositas pelarut mengendalikan laju difusi massa solut dari matriks padat ke dalam fasa cair. Etanol memiliki viskositas dinamis sebesar 1.074 cP pada suhu 25°C, sedikit lebih tinggi daripada air dan metanol. Walaupun viskositas etanol lebih tinggi, kinetika ekstraksi etanol dapat dioptimalkan dengan peningkatan suhu terkontrol atau bantuan gelombang ultrasonik. Viskositas etanol yang moderat dapat mencegah penyumbatan filter selama proses pemisahan residu padat tumbuhan. Sehingga proses filtrasi fasa cair menjadi lebih cepat dan efisien.

Potensi pembentukan campuran azeotrop merupakan fenomena termodinamika penting yang membedakan etanol dari pelarut tunggal lain. Etanol membentuk campuran azeotrop dengan air pada kadar 95.6% etanol dan 4.4% air dengan titik didih konstan sebesar 78.1°C. Fenomena tersebut dapat menyulitkan pemurnian etanol kembali menjadi kondisi absolut melalui distilasi sederhana. Kondisi azeotropik justru menguntungkan dalam proses ekstraksi tumbuhan komersial. Keberadaan fraksi air kecil meningkatkan hidrasi dinding sel selulosa, sehingga penetrasi etanol ke dalam vakuola meningkat.

Tingkat bahaya kebakaran (*flammability*) menjadi pertimbangan utama dalam desain keselamatan pabrik ekstraksi. Etanol memiliki titik nyala (*flash point*) sekitar 13°C, yang mengategorikannya sebagai cairan mudah terbakar Kelas IB. Pelarut nonpolar seperti n-heksana dan polar aprotik seperti aseton memiliki risiko kebakaran dan ledakan yang serupa atau bahkan lebih tinggi. Manajemen risiko industri memerlukan sistem instalasi listrik yang tahan ledakan (*explosion-proof*) saat mengoperasikan etanol dalam jumlah besar.

3. Dinamika Aplikasi Industri dan Aspek Regulasi Kesehatan

Sifat antimikroba intrinsik etanol memberikan keunggulan stabilitas yang tidak dimiliki oleh pelarut air. Pada konsentrasi di atas 20%, etanol secara efektif menghambat pertumbuhan bakteri, kapang, dan khamir dalam maserat. Keunggulan tersebut meniadakan kebutuhan penambahan pengawet sintetik selama proses ekstraksi jangka panjang. Ekstraksi menggunakan air murni sangat rentan terhadap fermentasi mikroba yang dapat merusak kandungan senyawa aktif dalam hitungan jam.

Etanol memegang status *Generally Recognized as Safe* (GRAS) dari berbagai otoritas pengawas obat dan makanan global. Status hukum tersebut memberikan kelonggaran regulasi yang besar untuk produk akhir berupa suplemen, obat tradisional, dan bahan pangan. Batas residu pelarut

(*residual solvents*) untuk etanol dalam produk farmasi jauh lebih tinggi daripada pelarut jenis lain. Metanol, kloroform, dan n-heksana masuk dalam kategori pelarut dengan pembatasan ketat karena sifat toksisitas akumulatif yang dihasilkan oleh pelarut tersebut. Standardisasi mutu ekstrak herbal modern menempatkan etanol sebagai pelarut referensi universal. Fleksibilitas polaritas etanol menghasilkan profil kromatogram yang representatif untuk memetakan seluruh komponen kimia tanaman (*chemical fingerprinting*). Konsistensi hasil ekstraksi etanol mempermudah proses kendali mutu dari satu *bets* produksi ke *bets* berikut. Penggunaan etanol menjamin ketersediaan hayati (*bioavailability*) senyawa aktif yang optimal saat diaplikasikan ke dalam sistem biologis manusia.

E. Optimalisasi Konsentrasi Etanol untuk Hasil Ekstraksi Maksimal

Optimasi konsentrasi pelarut merupakan tahapan paling krusial dalam interaksi padat-cair proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder. Etanol murni memiliki konstanta dielektrik yang relatif rendah sebesar 24.5 pada suhu kamar. Karakteristik fisikokimia tersebut memberikan etanol sifat amfifilik yang unik. Pelarut etanol memiliki gugus hidroksil polar dan rantai etil nonpolar sekaligus. Sifat ganda tersebut memungkinkan etanol berinteraksi dengan berbagai macam senyawa target. Rentang targetnya meliputi senyawa polar hingga semipolar. Namun, efisiensi penarikan zat aktif akan menurun jika peneliti hanya mengandalkan etanol murni tanpa kombinasi air. Molekul air membawa konstanta dielektrik yang sangat tinggi yaitu sebesar 78.54 pada suhu 25°C.

Pencampuran air ke dalam etanol dalam rasio tertentu dapat mengubah konstanta dielektrik campuran secara linear. Pengaturan rasio tersebut menjadi dasar mekanis untuk memodifikasi polaritas pelarut. Peneliti dapat menyesuaikan polaritas campuran dengan polaritas senyawa target secara presisi. Langkah tersebut dilakukan untuk meminimalkan

kegagalan eksperimen dalam proses laboratorium. Penyesuaian konsentrasi etanol bertujuan untuk memenuhi prinsip dasar kelarutan kimia yaitu *like dissolves like*. Setiap kelompok senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin memiliki indeks polaritas yang spesifik. Modifikasi konsentrasi etanol melalui pengenceran dengan air menghasilkan rentang polaritas yang dinamis. Fleksibilitas tersebut membuat sistem pelarut biner etanol-air jauh lebih efektif daripada sistem pelarut tunggal.

Secara empiris, konsentrasi etanol yang tidak tepat dapat menyebabkan fenomena saturasi dini. Kesalahan akurasi kadar juga bisa memicu ko-ekstraksi senyawa pengotor yang tidak diinginkan. Pelarut yang terlalu polar dapat melarutkan senyawa makromolekul non-target seperti protein dan karbohidrat. Sebaliknya, pelarut yang terlalu nonpolar gagal mengikat senyawa target dengan polaritas menengah secara sempurna. Penentuan konsentrasi optimum menjadi kunci utama keberhasilan isolasi senyawa aktif berkhasiat. Proses ekstraksi selalu bermula dari penetrasi pelarut ke dalam ruang antarsel dan vakuola jaringan tumbuhan. Keberadaan fraksi air dalam pelarut etanol memicu fenomena pembengkakan sel yang ideal. Air bertindak sebagai agen hidrasi yang melunakkan dinding sel selulosa dan membran sel tanaman. Pembengkakan yang terjadi dapat meregangkan pori-pori sel secara mekanis. Kondisi tersebut mempermudah molekul etanol masuk ke dalam sel tanaman untuk melarutkan solut. Sebaliknya, etanol absolut tanpa kandungan air justru sering mendenaturasi protein dinding sel secara mendadak. Denaturasi tersebut mengakibatkan pengerutan pori-pori matriks tanaman secara permanen. Fenomena pengerutan tersebut terkenal luas sebagai efek fiksasi jaringan.

Efek fisasi jaringan tanaman mengakibatkan pelarut terjebak di luar dan gagal menjangkau kompartemen dalam sel. Fakta tersebut menjelaskan alasan rendemen ekstrak menggunakan etanol absolut sering lebih rendah daripada etanol encer. Kombinasi kadar air yang ideal memberikan

tekanan osmotik yang cukup untuk memecah kompartemen vakuola. Ketika vakuola pecah, senyawa target akan langsung masuk ke dalam fasa cair intraseluler. Perbedaan konsentrasi yang tinggi antara bagian dalam dan luar sel akan mendorong terjadinya difusi massa. Keberadaan etanol dalam fasa cair menurunkan viskositas air murni. Penurunan resistensi cairan membuat laju difusi massa berjalan lebih cepat dan konstan. Namun, ilmuwan harus mengendalikan persentase air dalam etanol agar tidak menyebabkan pembengkakan yang berlebihan. Pembengkakan berlebih dapat membuat matriks tanaman menjadi sangat lembek. Jaringan simplisia dapat hancur menjadi suspensi koloid yang pekat. Kondisi koloid tersebut akan mempersulit proses filtrasi dan pemisahan residu pasca-ekstraksi.

Hambatan mekanis selama ekstraksi dapat menurunkan efisiensi kerja mesin penyaring pada skala industri. Kinetika perpindahan massa dalam ekstraksi cair-padat sangat bergantung pada sifat termodinamika campuran pelarut. Hukum Fick pertama menyatakan bahwa fluks massa berbanding lurus dengan gradien konsentrasi dan koefisien difusi. Konsentrasi etanol memengaruhi viskositas dan kerapatan pelarut biner tersebut secara langsung. Viskositas campuran etanol-air mencapai titik maksimum pada kadar etanol sekitar 40% hingga 50% volume. Peningkatan viskositas pada titik tertentu dapat menurunkan koefisien difusi solut. Fenomena tersebut sesuai dengan hukum mekanika fluida pada persamaan Stokes-Einstein. Sehingga kurva optimasi sering kali menunjukkan penurunan hasil ekstraksi pada area viskositas puncak tersebut. Solusi praktis untuk mengatasi kendali viskositas adalah dengan menaikkan suhu ekstraksi secara berkala. Peningkatan suhu mampu memutus ikatan hidrogen antar-pelarut secara termal. Hal tersebut menyebabkan viskositas campuran menurun dan laju difusi massa kembali meningkat tajam. Konsentrasi etanol juga memengaruhi kelarutan jenuh dari senyawa aktif di dalam fasa cair.

Konsentrasi pelarut mendekati titik jenuh terlalu cepat, dapat menyebabkan gaya dorong difusi akan melemah sebelum seluruh solut keluar. Dalam mempertahankan volume dan kadar etanol yang tepat selama proses maserasi mampu menjaga gradien konsentrasi tetap tinggi. Langkah tersebut menjamin kinetika perpindahan massa tetap stabil hingga mencapai titik kesetimbangan. Peneliti harus mengoptimalkan faktor rasio padat-cair secara simultan bersama dengan konsentrasi etanol. Volume pelarut yang terlalu sedikit tidak dapat menghasilkan rendemen maksimal meskipun kadar etanol sudah ideal. Jumlah volume pelarut yang memadai berfungsi sebagai bak penampung untuk mencegah kejenuhan fasa cair. Langkah tersebut menjamin kinetika perpindahan massa tetap stabil. Optimasi kadar etanol memberikan dampak spesifik terhadap hasil penarikan kelompok senyawa flavonoid. Flavonoid aglikon yang bersifat kurang polar menghendaki konsentrasi etanol tinggi antara 70% hingga 96% untuk ekstraksi maksimal. Sementara itu, flavonoid dalam bentuk glikosida memiliki gugus gula polar yang membutuhkan kadar etanol lebih rendah sekitar 30% hingga 50%. Pengetahuan tentang estimasi struktur target sangat menentukan pemilihan target konsentrasi pelarut.

Senyawa golongan polifenol dan tanin berbobot molekul tinggi sangat menyukai campuran etanol-air berkadar sedang. Konsentrasi etanol sekitar 50% hingga 70% biasanya menghasilkan nilai kadar total fenolik tertinggi dalam pengujian, karena pada rentang konsentrasi tersebut, interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen antara pelarut dengan gugus hidroksil fenol berada pada kondisi paling seimbang. Sehingga kapasitas antioksidan dari ekstrak mencapai nilai maksimum. Senyawa alkaloid yang berada dalam bentuk garam alaminya di dalam tumbuhan memiliki kelarutan yang baik dalam air. Namun, penetrasi ke dalam sel membutuhkan bantuan afinitas dari pelarut organik seperti etanol. Konsentrasi etanol berkisar antara 60% hingga 80% sering menjadi rentang terbaik untuk isolasi alkaloid. Kombinasi tersebut memberikan daya hancur dinding sel sekaligus melarutkan garam alkaloid secara efisien.

Saponin merupakan senyawa amfifilik alami yang memiliki struktur aglikon steroid atau triterpenoid dengan rantai gula polar. Karakteristik surfaktan tersebut membuat saponin sangat mudah larut dalam sistem etanol berkadar rendah antara 30% hingga 50%. Penggunaan kadar etanol yang terlalu tinggi akan menurunkan kelarutan bagian rantai gulanya secara drastis. Sebaliknya, air murni mampu menghasilkan terlalu banyak busa yang mengganggu proses evaporasi. Masalah utama dalam penggunaan pelarut dengan kadar air tinggi adalah risiko hidrolisis enzimatis selama proses ekstraksi. Enzim-enzim hidrolase endogen tanaman seperti polifenol oksidase tetap aktif dalam media yang kaya air. Enzim tersebut dapat mendegradasi senyawa aktif target menjadi senyawa metabolit sekunder yang tidak memiliki khasiat terapeutik. Keberadaan etanol pada konsentrasi di atas 50% mampu mendenaturasi enzim secara ireversibel.

Aspek stabilitas mikrobiologi selama proses maserasi sangat bergantung pada tingkat konsentrasi etanol yang digunakan. Air murni merupakan media yang sangat ideal bagi pertumbuhan bakteri, kapang, dan khamir. Etanol bertindak sebagai pengawet alami dan agen antimikroba yang efektif pada konsentrasi minimal 20%. Penggunaan kadar etanol di atas batas tersebut menjamin proses ekstraksi terbebas dari kontaminasi mikroba meskipun memakan waktu berhari-hari. Sifat terkenal luas sebagai efek fiksasi jaringan dari etanol berkonsentrasi tinggi juga perlu mendapat perhatian dalam penanganan pasca-ekstraksi. Etanol 96% ke atas sangat cepat menyerap uap air dari lingkungan sekitar saat terpapar udara terbuka. Perubahan kadar air yang tidak terkontrol dapat menggeser profil kelarutan ekstrak yang sudah tertarik. Sehingga perlu kontrol kelembapan ruangan selama proses produksi menjadi parameter penunjang yang wajib dipenuhi pabrik jika produksi skala besar.

Metodologi optimasi modern saat ini sering menggunakan pendekatan *Response Surface Methodology* atau RSM. Pendekatan tersebut tidak lagi menggunakan metode konvensional *one-factor-at-a-time* yang tidak efisien dan boros

bahan kimia. RSM memetakan interaksi antara konsentrasi etanol, suhu, dan waktu ekstraksi secara simultan melalui model matematika kuadratik. Pendekatan sistemis mempercepat penemuan titik optimum sejati dengan jumlah eksperimen yang minimal. Penerapan teknologi *Ultrasound-Assisted Extraction* memerlukan penyesuaian konsentrasi etanol yang berbeda dari metode maserasi konvensional. Gelombang ultrasonik memicu fenomena kavitasi yang menghasilkan tekanan lokal ekstrem untuk memecah dinding sel tanaman. Karakteristik fisik pelarut seperti tekanan uap dan tegangan permukaan sangat dipengaruhi oleh kadar etanol. Konsentrasi etanol yang optimal bersama teknologi kavitasi dapat memangkas waktu ekstraksi dari hitungan jam menjadi hitungan menit.

Ditinjau dari aspek ekonomi industri, pemilihan konsentrasi etanol berkaitan langsung dengan biaya pemulihan pelarut kembali. Penguapan ekstrak dengan kadar air tinggi membutuhkan konsumsi energi termal yang sangat besar pada unit evaporator. Etanol memiliki panas penguapan laten yang jauh lebih rendah daripada air murni sehingga menekan biaya utilitas pabrik secara signifikan. Efisiensi daur ulang pelarut juga menjadi lebih tinggi jika operasional industri mendekati komposisi titik azeotrop etanol-air sebesar 95.6%.

BAB 4 | TEKNOLOGI EKSTRAKSI DAN FRAKSINASI EKSPERIMENTAL

A. Metode Ekstraksi Konvensional: Maserasi dan Perkolasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi konvensional yang paling universal dan sering menjadi acuan dasar dalam penelitian laboratorium maupun skala industri herbal. Prinsip mekanis dari metode maserasi sepenuhnya mengandalkan fenomena kesetimbangan konsentrasi melalui perendaman simplisia statis tanpa aplikasi panas eksternal. Ketika matriks tanaman terendam dalam pelarut seperti etanol, molekul pelarut akan membasahi permukaan luar, menembus dinding sel selulosa, dan masuk ke dalam kompartemen vakuola tempat metabolit sekunder tersimpan. Proses tersebut memicu pelarutan zat aktif di dalam sel hingga menciptakan kondisi jenuh intraseluler. Perbedaan tekanan osmotik yang kontras antara bagian dalam sel yang pekat dan fasa cair luar yang masih murni sehingga memicu perpindahan massa secara difusi kinetik dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah.

Kelemahan utama metode maserasi statis adalah terjadi fenomena lapisan batas jenuh atau *boundary layer* di sekitar permukaan padatan simplisia. Tanpa ada gaya mekanis eksternal, gradien konsentrasi antara fasa padat dan fasa cair akan berkurang secara eksponensial seiring berjalannya waktu. Kondisi tersebut menyebabkan laju transfer massa melambat secara drastis hingga mencapai titik kesetimbangan statis sebelum seluruh zat aktif keluar. Sehingga modifikasi berupa pengadukan kontinu atau periodik (remaserasi) mutlak

diperlukan untuk memecah lapisan batas tersebut. Pengadukan menjaga gradien konsentrasi tetap tinggi di permukaan kontak antar-fasa, sehingga fluks massa solut ke dalam pelarut massal dapat berjalan optimal sampai mendekati ambang batas kelarutan maksimum suatu senyawa aktif bahan alam.

Meskipun maserasi membutuhkan waktu pemrosesan yang relatif lama hingga hitungan hari, namun menawarkan keunggulan proteksi termal yang sangat tinggi untuk senyawa target. Ketiadaan paparan panas mencegah terjadi pemutusan ikatan kovalen atau penataan ulang struktural pada molekul-molekul yang bersifat termolabil seperti antosianin, glikosida tertentu, dan minyak atsiri ringan. Kesederhanaan rancangan operasional maserasi meminimalkan risiko kerusakan mekanis pada struktur kimia kompleks. Faktor-faktor tersebut yang menjadikan maserasi sebagai metode standardisasi referensi primer untuk mengevaluasi profil kimia asli (*chemical fingerprinting*) dari suatu matriks biomasa sebelum menggunakan metode modern. Perkolasi hadir sebagai bentuk evolusi mekanis dari maserasi untuk mengatasi keterbatasan efisiensi transfer massa pada sistem rendaman statis. Proses perkolasi dilakukan dalam wadah silinder atau konis yang disebut perkolator, pelarut dialirkan secara kontinu dari atas menembus padat simplisia (*solid bed*) ke arah bawah akibat gaya gravitasi. Sebelum dimasukkan ke dalam perkolator, simplisia wajib melalui tahap impregnasi atau pembasahan awal di luar sistem menggunakan sebagian kecil pelarut. Tahap pra-pembasahan tersebut bertujuan untuk memberikan waktu bagi jaringan tanaman untuk mengalami pembengkakan/penggelembungan (*swelling*). *Swelling* selulosa membuka jalan pintas bagi difusi pelarut ke dalam struktur mikro tanaman dan mencegah penyumbatan aliran akibat pemampatan mendadak di dalam kolom perkolator.

Dinamika perpindahan massa pada perkolasi digerakkan oleh gradien konsentrasi yang terjaga pada kondisi maksimum secara konstan di sepanjang kolom. Saat cairan pelarut bergerak ke bawah, lapisan simplisia paling atas akan selalu berkontak

dengan pelarut organik segar yang memiliki konsentrasi solut nol. Kondisi tersebut menciptakan gaya dorong termodinamika yang sangat kuat untuk menarik sisa-sisa zat aktif yang masih tertinggal di dalam sel. Sedangkan fasa cair yang bergerak ke bawah semakin lama semakin pekat karena mengumpulkan solut dari lapisan-lapisan di bawahnya hingga keluar sebagai perkolat melalui kran pengatur aliran. Mekanisme dinamis memastikan bahwa proses desorpsi zat aktif berjalan jauh lebih tuntas dan efisien dibandingkan dengan sistem maserasi tertutup. Faktor kritis yang mengendalikan keberhasilan metode perkolasi adalah pengaturan laju tetesan atau *flow rate* pelarut yang keluar dari dasar kolom. Jika laju aliran terlalu cepat, waktu tinggal (*residence time*) pelarut untuk berdifusi ke dalam pori-pori matriks tanaman menjadi terlalu singkat. Sehingga pelarut hanya melewati jalur-jalur longgar di antara partikel (*channeling effect*) tanpa sempat melarutkan komponen intraseluler secara mendalam, yang berujung pada pemborosan volume pelarut dengan rendemen rendah. Sebaliknya, jika laju aliran terlalu lambat, proses ekstraksi akan memakan waktu operasi yang tidak ekonomis dan memicu kejenuhan lokal di dalam kolom. Standardisasi laju aliran harus disesuaikan berdasarkan ukuran partikel simplisia, densitas curah, dan tingkat viskositas dari jenis pelarut yang digunakan.

10

B. Metode Ekstraksi Modern: *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE)

Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) merupakan metode ekstraksi modern berbasis gelombang akustik non-termal dengan frekuensi berkisar antara 20 kHz hingga 100 kHz. Prinsip mekanis utama UAE bersandar sepenuhnya pada fenomena kavitasi akustik yang terjadi di dalam media pelarut cair. Ketika gelombang ultrasonik merambat melalui cairan, gelombang tersebut menciptakan siklus kompresi dan refraksi yang bergantian dengan sangat cepat. Pada saat siklus refraksi atau tekanan negatif berlangsung, jarak antar-molekul pelarut meregang melampaui gaya kohesif alaminya, sehingga memicu

terbentuk gelembung-gelembung mikro (*microbubbles*) yang tidak stabil. Gelembung kavitasi tersebut terus menyerap energi dari gelombang ultrasonik dan tumbuh membesar selama beberapa siklus radikal hingga mencapai ukuran kritis tertentu. Ketika gelembung tidak mampu lagi menahan tekanan, gelembung akan pecah secara mendadak (implosi) dalam hitungan mikrodetik. Implosi lokal tersebut menghasilkan titik-titik panas ekstrem (*hotspots*) bersuhu hingga 5000 K dan tekanan mekanis masif mencapai 1000 atmosfer. Fenomena kejutan hidrodinamis juga memicu terbentuknya pancaran cairan berkecepatan tinggi (*microjets*) yang mengarah langsung ke permukaan matriks simplisia.

Dampak fisik dari pancaran *microjets* dan gelombang kejut mampu menyebabkan kerusakan mekanis yang parah pada dinding sel tanaman. Struktur selulosa dan pektin yang kaku akan mengalami erosi permukaan, pembentukan pori-pori mikro, hingga keretakan struktural yang masif. Hancurnya barier fisik sel tersebut menghilangkan hambatan utama transfer massa intraseluler. Pelarut organik dapat dengan sangat cepat masuk membasahi kompartemen vakuola, sementara senyawa metabolit sekunder target langsung terdesorpsi keluar menuju fasa cair eksternal tanpa perlu mengandalkan proses difusi lambat seperti pada metode konvensional. Selain merusak dinding sel secara langsung, kavitasi akustik juga menimbulkan efek sekunder berupa peningkatan turbulensi lokal dan arus akustik (*acoustic streaming*) di dalam sistem biner pelarut. Gerakan turbulen yang intensif secara konstan mengacaukan dan menipiskan lapisan batas jenuh (*boundary layer*) yang menyelimuti permukaan partikel padat. Kehilangan lapisan hambatan tersebut, menghasilkan peningkatan koefisien perpindahan massa secara eksponensial. Hal tersebut berujuan untuk menjaga gradien konsentrasi antara permukaan padatan dan pelarut massal tetap berada pada kondisi maksimum di sepanjang proses ekstraksi berlangsung. Karakteristik non-termal dari UAE menjadikan metode ekstraksi tersebut menjadi teknologi pilihan utama untuk mengisolasi senyawa metabolit

sekunder yang sensitif terhadap panas atau termolabil. Walaupun fenomena kavitasi menghasilkan titik panas eksternal, fenomena tersebut terjadi dalam skala spasial dan temporal yang sangat mikro sehingga tidak menaikkan suhu sistem secara global. Senyawa-senyawa sensitif seperti polifenol, antioksidan glikosida, dan pigmen alami dapat ditarik dengan rendemen maksimal tanpa risiko degradasi termal. Selain itu, UAE sangat efisien karena mampu memangkas waktu proses ekstraksi dari hitungan hari pada metode maserasi menjadi hanya dalam hitungan menit saja.

Microwave-Assisted Extraction (MAE) mengandalkan penetrasi radiasi elektromagnetik non-ionisasi pada frekuensi standar industri sebesar 2450 MHz untuk memanaskan sistem ekstraksi. Berbeda dengan metode konvensional yang mengandalkan hantaran panas konduksi dan konveksi dari luar ke dalam, MAE menerapkan prinsip pemanasan internal secara volumetrik. Transfer energi pada MAE digerakkan oleh dua mekanisme biofisika yang bekerja secara simultan, yaitu konduksi ionik dari garam-garam terlarut dan rotasi dipol dari molekul-molekul polar yang ada di dalam matriks jaringan tumbuhan. Ketika medan listrik dari gelombang mikro mengenai sistem ekstraksi, molekul-molekul pelarut dan komponen intraseluler yang memiliki momen dipol permanen seperti air dan etanol akan mencoba menyelaraskan arah strukturnya dengan orientasi medan listrik yang berubah miliaran kali per detik. Osilasi molekuler yang sangat cepat tersebut dapat memicu gesekan antar-molekul yang intens dan menghasilkan konversi energi elektromagnetik menjadi energi panas secara instan. Pada saat yang sama, ion-ion bebas di dalam sel bergerak bolak-balik mengikuti fluktuasi medan listrik, meningkatkan resistensi tabrakan dan mempercepat disipasi panas internal. Air intraseluler di dalam vakuola sel tumbuhan bertindak sebagai target utama atau susceptor utama gelombang mikro karena memiliki kapasitas rotasi dipol yang sangat tinggi. Pemanasan volumetrik yang instan menyebabkan air intraseluler menguap dengan cepat di dalam ruang sel yang

terbatas. Fenomena tersebut menciptakan tekanan uap internal yang luar biasa besar dan mendesak dinding sel dari arah dalam. Ketika terjadi regangan mekanis akibat tekanan uap melampaui batas elastisitas dinding selulosa, sel tanaman akan mengalami ledakan mikro (*micro-explosion*) dan hancur secara serentak.

Kehancuran total struktur seluler akibat efek *micro-explosion* dapat membebaskan seluruh kandungan senyawa aktif yang tersimpan di dalam vakuola ke dalam media pelarut di luarnya. Proses pelepasan solut tidak lagi dibatasi oleh ketahanan membran sel atau kapilaritas jaringan padat. Aliran massa aktif berubah dari proses difusi terkontrol menjadi proses pelepasan langsung (*instantaneous desorption*). Fleksibilitas mekanisme tersebut menjelaskan mengapa MAE mampu menghasilkan rendemen ekstrak yang sangat tinggi dengan konsumsi volume pelarut yang jauh lebih sedikit daripada metode konvensional. Faktor utama dalam optimasi MAE terletak pada pemilihan konstanta dielektrik campuran pelarut yang disesuaikan dengan karakteristik senyawa target. Jika pelarut yang digunakan terlalu tembus (tidak menyerap) terhadap gelombang mikro (seperti n-heksana), maka pemanasan fasa cair tidak dapat terjadi secara efektif. Sebaliknya, kombinasi pelarut polar protik seperti etanol-air mampu menyerap dan mendisipasikan energi mikro dengan sangat seimbang. Pengendalian daya gelombang mikro (*microwave power*) dan waktu paparan harus diatur secara ketat menggunakan sistem sensor suhu tertutup demi mencegah lewat-panas (*overheating*) terjadi yang dapat merusak struktur kimia senyawa termolabil.

C. Parameter Kritis Proses Ekstraksi: Suhu, Waktu, dan Rasio Bahan

Keberhasilan proses ekstraksi dalam skala eksperimental maupun industri sangat ditentukan oleh kendali yang dapat terjadi pada tiga parameter kritis utama, yaitu suhu, waktu, dan rasio antara bahan padat dengan pelarut (*solid-to-solvent ratio*). Ketiga faktor tersebut saling berinteraksi secara termodinamika

dan kinetika untuk menentukan kuantitas rendemen serta kualitas senyawa aktif yang dihasilkan. Optimasi yang tepat terhadap variabel-variabel ekstraksi tersebut meminimalkan biaya operasional sekaligus mencegah kerusakan komponen kimia target. Suhu ekstraksi memegang peranan vital dalam mengatur konstanta laju reaksi, viskositas pelarut, dan koefisien difusi solut menurut persamaan Stokes-Einstein. Peningkatan suhu secara moderat dapat memberikan energi kinetik yang lebih besar pada molekul pelarut, sehingga viskositas dan tegangan permukaan fasa cair menurun secara signifikan. Penurunan viskositas mempermudah pelarut organik untuk berpenetrasi ke dalam pori-pori kapiler matriks simplisia. Selain itu, panas yang dihantarkan ke dalam sistem akan memutuskan ikatan sekunder lemah (seperti ikatan hidrogen dan gaya Van der Waals) yang mengikat senyawa aktif pada matriks dinding sel tanaman, sehingga kelarutan jenuh (*saturation solubility*) solut meningkat. Namun, penerapan suhu yang terlalu tinggi dapat menjadi bumerang mekanis akibat risiko degradasi termal pada senyawa metabolit sekunder. Banyak komponen aktif berkhasiat, seperti golongan polifenol, glikosida, dan antosianin, memiliki struktur molekul yang termolabil dan rentan mengalami oksidasi, hidrolisis, atau penataan ulang struktural saat terpapar panas berlebih. Selain merusak senyawa target, suhu tinggi yang mendekati titik didih pelarut juga memicu penguapan pelarut dengan cepat di dalam sistem terbuka. Hal tersebut dapat mengubah rasio padat-cair (simplisia : pelarut) secara tidak terkontrol dan meningkatkan bahaya kebakaran pada pelaksanaan di laboratorium. Waktu ekstraksi merupakan parameter kinetika yang menentukan durasi kontak antarfasa hingga tercapai kondisi kesetimbangan termodinamika. Pada tahap awal proses ekstraksi, laju penarikan senyawa aktif berjalan sangat cepat karena gradien konsentrasi antara senyawa dalam sel simplisia dan pelarut murni masih berada pada kondisi maksimum. Senyawa yang terletak di permukaan padatan akan langsung terdesorpsi ke dalam fasa cair dalam hitungan menit. Tahap awal ini dikendalikan oleh mekanisme

pembasahan jaringan dan pelarutan langsung zat aktif yang mudah diakses. Seiring waktu, laju ekstraksi akan memasuki fase melambat di mana perpindahan massa bergantung pada proses difusi padat-cair yang lambat melewati membran sel yang kaku. Perpanjangan waktu ekstraksi melampaui titik kesetimbangan tidak dapat meningkatkan rendemen zat aktif secara signifikan karena fasa cair telah mencapai kondisi jenuh (*equilibrium saturation*). Durasi yang terlalu lama justru membuka peluang terjadi degradasi senyawa aktif akibat paparan cahaya, udara, atau panas lokal yang kontinu. Selain itu, waktu tinggal (kontak/paparan) yang berlebihan dapat memicu ko-ekstraksi senyawa makromolekul pengotor seperti pektin dan lendir, yang menyulitkan proses filtrasi lanjutan. Rasio bahan terhadap pelarut menentukan gaya dorong (*driving force*) mekanis yang mengendalikan fluks massa berdasarkan Hukum Fick Pertama. Penggunaan volume pelarut yang besar (rasio bahan rendah, misalnya 1:20 atau 1:30) memastikan gradien konsentrasi antara permukaan padatan simplisia dan pelarut massal tetap terjaga tinggi selama proses ekstraksi berlangsung. Kondisi tersebut dapat mencegah kejenuhan fasa cair terlalu dini dan memfasilitasi desorpsi solut dari sisi aktif matriks tanaman secara sempurna. Rendemen total yang diperoleh umumnya meningkat seiring dengan penambahan volume pelarut yang diaplikasikan.

Meskipun demikian, optimasi rasio bahan harus mempertimbangkan kelayakan ekonomi dan efisiensi proses pasca-ekstraksi pada unit hilir. Penggunaan volume pelarut yang berlebihan dapat menghasilkan cairan ekstrak yang sangat encer, sehingga membutuhkan waktu dan konsumsi energi termal yang jauh lebih besar pada tahap penguapan (evaporasi). Proses pemekatan filtrat meningkatkan biaya utilitas pabrik dan memperpanjang waktu paparan panas pada senyawa aktif. Sehingga penentuan rasio bahan optimum harus menyeimbangkan antara pencapaian rendemen maksimal dengan minimalisasi volume pelarut untuk keberlanjutan operasional/produksi.

D. Teknik Fraksinasi untuk Pemisahan Kelompok Senyawa

9 Teknik fraksinasi merupakan tahapan krusial pasca-ekstraksi yang bertujuan untuk memisahkan kompartemen senyawa kimia di dalam ekstrak kasar (*crude extract*) ke dalam beberapa fraksi spesifik berdasarkan tingkat polaritasnya. Metode fraksinasi yang paling universal dan sering diterapkan dalam skala laboratorium eksperimental adalah ekstraksi cair-cair (ECC) atau dikenal sebagai fraksinasi corong pisah. Prinsip dasar dari teknik ECC sepenuhnya mengandalkan koefisien distribusi solut di antara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur (*immiscible solvents*), biasanya berupa fase air-alkohol (ekstrak awal) dan pelarut organik nonpolar atau semipolar. Ketika kedua fase pelarut dikocok bersama di dalam corong pisah, senyawa-senyawa metabolit sekunder akan bermigrasi dan terdistribusi secara selektif menuju pelarut yang memiliki indeks polaritas paling setara berdasarkan hukum termodinamika kelarutan. Proses fraksinasi cair-cair tersebut umum dilakukan secara bertingkat atau sekuensial, dimulai dari penggunaan pelarut dengan indeks polaritas paling rendah hingga pelarut yang paling polar. Tahap awal biasanya menggunakan eluen penggunaan n-heksana atau petroleum eter untuk menarik fasa lipid netral, asam lemak, lilin, klorofil, dan senyawa terpenoid nonpolar lainnya dari dalam ekstrak kasar. Setelah fase nonpolar tersebut terpisah, fase air sisanya kemudian dikocok kembali dengan pelarut semipolar seperti kloroform atau etil asetat untuk mengisolasi kelompok senyawa semipolar seperti flavonoid bebas, alkaloid basa, dan stilbena. Tahap akhir fraksinasi dapat menggunakan n-butanol untuk menjaring senyawa polar berbobot molekul tinggi seperti saponin dan glikosida, sehingga meninggalkan senyawa sangat polar seperti gula dan asam amino di dalam fase air residu.

44 Selain ekstraksi cair-cair, teknik kromatografi kolom konvensional juga menjadi pilar utama dalam fraksinasi eksperimental untuk pemisahan kelompok senyawa yang lebih spesifik. Kromatografi kolom memanfaatkan perbedaan afinitas solut terhadap fase diam berupa adsorben padat (seperti silika

gel atau alumina) dan fasa gerak berupa kombinasi pelarut organik yang dialirkan secara kontinu. Senyawa aktif di dalam ekstrak akan mengalami proses adsorpsi dan desorpsi yang berulang di sepanjang kolom kromatografi. Komponen kimia yang memiliki interaksi elektrostatis atau ikatan hidrogen yang kuat dengan silika gel polar tertahan lebih lama di dalam kolom, sedangkan komponen yang lebih larut dalam fasa gerak akan bergerak turun lebih cepat dan keluar sebagai fraksi-fraksi eluat terpisah yang ditampung secara periodik.

E. Proses Evaporasi dan Pemurnian Ekstrak Etanol

Proses evaporasi dan pemurnian merupakan tahapan krusial hilir yang bertujuan untuk menghilangkan pelarut organik dari cairan ekstrak kasar, sehingga diperoleh ekstrak kental yang stabil dan bebas residu berbahaya. Pada ekstrak biner seperti etanol-air, proses tersebut sangat tergantung terhadap perbedaan titik didih dan tekanan uap antara pelarut dengan senyawa metabolit sekunder target. Keberhasilan tahapan pemurnian sangat menentukan mutu fisik, kadar zat aktif, serta keamanan mikrobiologis dari produk akhir yang dihasilkan. Metode penguapan yang paling universal digunakan dalam skala laboratorium eksperimental adalah menggunakan alat penguap berputar bertekanan tereduksi (*rotary evaporator*). Alat tersebut bekerja dengan menurunkan tekanan udara di dalam sistem menggunakan pompa vakum, sehingga titik didih etanol dapat dipangkas secara drastis dari 78.37°C menjadi hanya sekitar 40°C hingga 45°C. Penurunan suhu tersebut mutlak diperlukan untuk meminimalkan risiko degradasi termal atau kerusakan struktur pada senyawa-senyawa aktif yang bersifat termolabil. Selama proses berlangsung, labu alas bulat yang berisi cairan ekstrak diputar secara konstan dalam penangas air (*water bath*) untuk memperluas permukaan kontak cairan, mempercepat transfer panas, dan mencegah fenomena letupan mendadak akibat tekanan lokal (*bumping*). Uap etanol yang terbentuk dari labu penguapan kemudian mengalir menuju kolom kondensor yang dialiri oleh cairan pendingin

bersuhu rendah. Di dalam kondensor, terjadi transfer panas laten yang mengubah kembali fasa uap etanol menjadi fasa cair murni, yang kemudian etanol tersebut ditampung di dalam labu penampung *distillate* untuk didaur ulang. Proses evaporasi dilakukan hingga seluruh fraksi pelarut volatil terpisahkan, meninggalkan massa padat atau semi-padat kental di dasar labu alas bulat. Pada simplisia yang kaya komponen air intrinsik, sisa kadar air pasca-evaporasi etanol biasanya dihilangkan lebih lanjut menggunakan alat pengering beku (*freeze dryer*) atau oven vakum bersuhu rendah demi mencapai standar kadar air ekstrak yang dipersyaratkan. Tahap pemurnian (*purification*) atau sering disebut dengan dekolorisasi dan *de-fatting* yang dilakukan untuk membersihkan ekstrak kental dari komponen makromolekul non-target yang ikut terlarut selama proses ekstraksi universal. Senyawa pengotor seperti klorofil, lilin, matriks lemak netral, dan lendir pektin sering mengganggu analisis kuantitatif dan menurunkan stabilitas fisik ekstrak selama penyimpanan. Pemisahan komponen lipofilik non-target dapat dilakukan dengan menambahkan pelarut nonpolar seperti n-heksana secara partisi cair-cair, atau dengan melewati cairan ekstrak melalui kolom yang berisi adsorben spesifik seperti arang aktif (*activated charcoal*) untuk mengikat pigmen pengotor tanpa menyerap senyawa aktif utama.

Sebagai langkah akhir dari rangkaian pemurnian, ekstrak yang telah bersih harus melalui tahapan standardisasi parameter spesifik dan non-spesifik untuk menjamin mutu dan konsistensi antar-bets produksi. Salah satu parameter kritis non-spesifik yang wajib diuji adalah penetapan kadar residu etanol menggunakan metode kromatografi gas (*Gas Chromatography*). Regulasi kesehatan mensyaratkan batas residu pelarut organik yang sangat tegas untuk menjamin produk akhir aman dari sifat toksisitas akut maupun kronis. Melalui kombinasi proses evaporasi yang presisi dan pemurnian yang terarah, ekstrak etanol yang dihasilkan tidak hanya kaya profil senyawa aktif berkhasiat, tetapi juga memiliki stabilitas fisikokimia yang tinggi

untuk diaplikasikan pada produk farmasi, kosmetik, atau pangan fungsional.

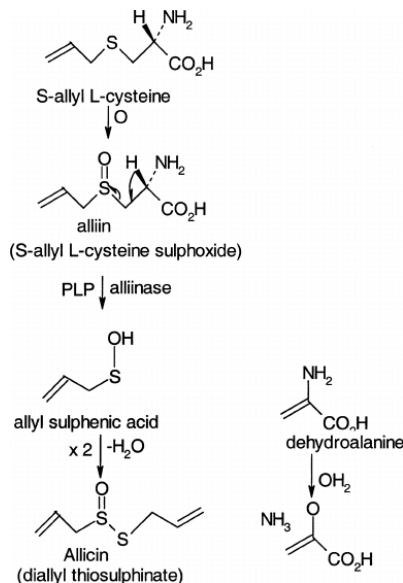
BAB 5

EKSPLORASI SENYAWA ORGANOSULFUR: ALISIN DAN TURUNANNYA

A. Biosintesis Alisin melalui Reaksi Enzimatis Aliinase

Biosintesis alisin merupakan proses pertahanan mekanis-kimiawi yang terjadi secara instan pada jaringan tanaman genus *Allium*, terutama bawang putih (*Allium sativum*), ketika mengalami kerusakan fisik atau cedera seluler. Dalam kondisi sel yang utuh dan normal, senyawa prekursor dan enzim yang bertanggung jawab dalam pembentukan alisin terisolasi secara spasial di dalam kompartemen seluler yang berbeda untuk mencegah reaksi dini (Gambar 5.1). Prekursor non-protein yang bersifat larut air, yaitu alliin (S-allil-L-sistein sulfoksida), disintesis dan disimpan di dalam vakuola sel. Sedangkan enzim aliinase (S-alkil-L-sistein sulfoksida liase) yang merupakan glikoprotein fungsional terikat secara spesifik pada bagian kompartemen sitoplasma atau ruang selubung vakuola. Ketika jaringan tanaman mengalami gangguan mekanis akibat pemotongan, penghancuran, atau gigitan predator, barier membran selular akan pecah secara masif. Kehancuran fisik membran tersebut memicu terjadinya kontak langsung antara substrat alliin yang terbebas dari vakuola dengan enzim aliinase yang berada di sitoplasma. Enzim aliinase bekerja sangat cepat sebagai katalisator spesifik dengan mengandalkan kofaktor piridoksat fosfat (PLP) yang terikat pada enzim tersebut. Aliinase mengatalisis reaksi eliminasi- β (β -elimination cleavage) pada molekul alliin untuk memutuskan ikatan karbon-sulfur (C-S).

Reaksi β -elimination cleavage pada molekul alliin menghasilkan tiga komponen molekul antara secara simultan, yaitu asam allilsulfonat ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{OH}$), asam piruvat, dan amonia (NH_3). Di antara ketiga produk tersebut, asam allilsulfonat merupakan senyawa antara (*intermediate*) yang sangat tidak stabil, sangat reaktif, dan berumur pendek dalam kondisi fisiologis tanaman. Karena sifat ketidakstabilan yang ekstrem, dua molekul asam allilsulfonat dapat segera mengalami reaksi kondensasi sendiri secara spontan tanpa memerlukan bantuan katalisis enzim lebih lanjut (*non-enzymatic self-condensation*). Proses kondensasi dehidrasi biner dari dua molekul asam allilsulfonat melibatkan penggabungan gugus sulfonat melalui eliminasi satu molekul air (H_2O). Reaksi kondensasi spontan tersebut menghasilkan senyawa organosulfur tiosulfonat tak jenuh yang dikenal sebagai alisin atau dialil tiosulfonat ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{S}(=\text{O})-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$). Alisin yang terbentuk menghasilkan aroma menyengat khas dan rasa tajam yang instan, sekaligus bertindak sebagai agen antimikroba dan antifungi spektrum luas untuk memproteksi tanaman dari infeksi patogen pasca-cedera/luka.



Gambar 5.1 Jalur Biosintesis Alisin Bawang Putih

Secara kinetika kimia, reaksi enzimatis alinase dapat berjalan dalam skala waktu mili detik dengan efisiensi *turnover* yang sangat tinggi pada kondisi pH optimum sekitar 6.5 dan suhu lingkungan yang moderat. Namun, enzim alinase sangat sensitif terhadap paparan asam ekstrem dan panas tinggi (*termolabil*). Jika jaringan bawang putih langsung dipanaskan atau dimasukkan ke dalam media dengan pH di bawah 3 sebelum dihancurkan, enzim alinase dapat mengalami denaturasi struktural secara ireversibel. Denaturasi menginaktivasi sisi aktif enzim sehingga konversi alisin menjadi asam allilsulfonat tidak terjadi, yang berujung pada tidak terbentuknya senyawa alisin dalam matriks tersebut. Alisin yang terbentuk dari reaksi spontan tersebut juga bukan merupakan produk akhir yang stabil secara termodinamika. Struktur ikatan tiosulfinat ($S(=O)-S$) pada alisin memiliki energi bebas yang tinggi dan rentan mengalami penataan ulang struktural (*rearrangement*) lebih lanjut jika terpapar suhu kamar atau pelarut organik. Dalam waktu singkat, alisin dapat terdegradasi menjadi berbagai senyawa turunan organosulfur sekunder yang lebih stabil tetapi memiliki karakteristik hidrofobik yang berbeda, seperti dialil disulfida (DADS), dialil trisulfida (DATS), ajoene, dan vinitilditiin, yang masing-masing memiliki spektrum aktivitas biologis yang unik pada kajian farmakologis.

B. Karakteristik Kimiawi dan Stabilitas Alisin dalam Medium Etanol

Alisin atau dialil tiosulfinat merupakan senyawa organosulfur yang memiliki karakteristik kimiawi unik akibat keberadaan gugus fungsi tiosulfinat ($-S(=O)-S-$). Gugus fungsi tersebut dicirikan oleh ikatan sulfur-sulfur yang terpolarisasi kuat dengan satu atom sulfur yang mengikat oksigen melalui ikatan koordinasi. Struktur elektronik tersebut menciptakan ketidakstabilan termodinamika yang tinggi karena atom sulfur yang mengikat oksigen bersifat elektrofilik, sementara pasangan atom sulfur bertindak sebagai pusat nukleofil yang peka

terhadap serangan termal maupun kimiawi. Sehingga alisin murni sangat tidak stabil dalam media air dan cepat mengalami degradasi struktur bahkan pada suhu kamar.

Medium etanol menawarkan lingkungan solven biner yang berbeda secara signifikan bagi stabilitas kinetika alisin dibandingkan dengan medium air murni. Etanol merupakan pelarut polar protik yang memiliki konstanta dielektrik lebih rendah (24.5) daripada air (78.54). Penurunan polaritas medium dapat mengurangi laju reaksi hidrolisis spontan yang biasanya memicu pemutusan ikatan tiosulfinat pada alisin. Di dalam larutan etanol berkadar tinggi (70% hingga 96%), molekul alisin mengalami solvasi terarah di mana gugus etil nonpolar dari etanol berinteraksi dengan rantai alil hidrofobik alisin, sementara gugus hidroksil membentuk ikatan hidrogen lemah dengan oksigen sulfoksida.

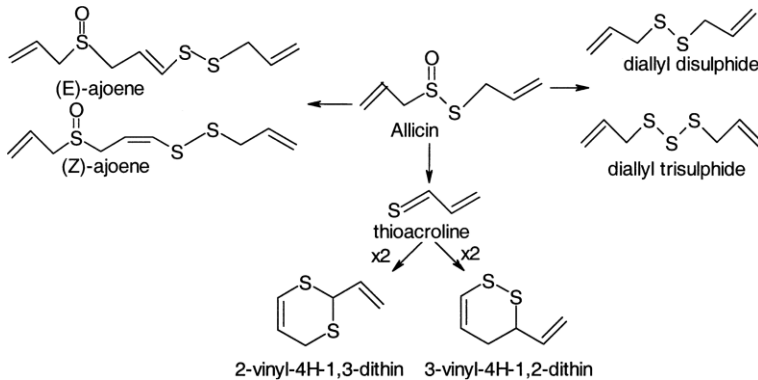
Meskipun etanol memberikan efek stabilisasi parsial dengan menghambat jalur degradasi hidrolitik, alisin di dalam medium etanol tetap mengalami proses dekomposisi termal sekuensial yang khas. Melalui mekanisme penataan ulang struktural (*rearrangement*), alisin dalam etanol perlahan akan melepaskan molekul asam allilsulfenat bebas. Senyawa antara tersebut kemudian bereaksi kembali dengan sesama molekul antara atau dengan sisa alisin untuk membentuk kelompok senyawa organosulfur sekunder yang bersifat larut minyak (lipofilik). Produk degradasi utama yang terbentuk dalam lingkungan etanolik meliputi dialil disulfida (DADS), dialil trisulfida (DATS), serta sejumlah kecil vinilditiin dan ajoene.

Laju kinetika degradasi alisin dalam medium etanol sangat bergantung pada parameter suhu penyimpanan dan konsentrasi solven biner tersebut. Pada suhu ruang (25°C), waktu paruh (*half-life*) alisin dalam etanol berkisar antara beberapa jam hingga hitungan hari, tergantung pada tingkat hidrasi air yang tersisa di dalam sistem biner. Dalam mempertahankan integritas kimiawi alisin agar tetap berada dalam bentuk monomer aktif, ekstrak etanol organosulfur wajib disimpan pada kondisi suhu sangat rendah (di bawah -20° C).

Paparan panas eksternal atau radiasi ultraviolet secara langsung dapat mengeksitasi ikatan sulfur-sulfur dan mempercepat energi aktivasi pembentukan senyawa alil disulfida sekunder secara ireversibel.

C. Profil Senyawa Turunan: Ajoene, Vinilditiin, dan Diallyl Sulfide

Degradasi dan penataan ulang struktural alisin memicu pembentukan kompleks senyawa organosulfur sekunder yang jauh lebih stabil secara termodinamika. Di antara berbagai produk turunan tersebut, ajoene, vinilditiin, dan dialil sulfida (diallyl sulfide) merupakan tiga kompartemen utama yang memiliki karakteristik fisikokimia dan profil bioaktivitas paling menonjol. Transformasi kimia dari alisin yang bersifat hidrofilik menjadi senyawa-senyawa turunan alisin menyebabkan perubahan sifat kelarutan sistem secara drastis menjadi sangat lipofilik. Ajoene, atau secara spesifik (E,Z)-4,5,9-tritriadodeka-1,6,11-triena 9-oksida, terbentuk secara eksklusif ketika alisin dipanaskan atau dilarutkan dalam pelarut organik seperti etanol atau minyak. Proses biosintesis sekunder tersebut diawali dengan penguraian alisin menjadi asam allilsulfonat dan tioakrolein melalui reaksi eliminasi (Gambar 5.2). Tioakrolein yang sangat reaktif kemudian mengalami reaksi sikloadisi Diels-Alder dengan molekul alisin lainnya untuk membentuk struktur ajoene yang unik dengan tiga atom sulfur (tritiasulfida) dan satu gugus sulfoksida. Ajoene menunjukkan stabilitas termal yang jauh lebih baik daripada alisin dan dikenal luas dalam dunia farmakologis karena aktivitas antitrombotik, antikanker, dan antimikroba yang sangat kuat pada model eksperimental. Vinilditiin, yang mendominasi fraksi larut minyak dalam bentuk isomer 2-vinil-4H-1,3-ditiin dan 3-vinil-4H-1,2-ditiin, merupakan senyawa siklik organosulfur yang terbentuk melalui jalur dekomposisi termal alisin. Ketika dua molekul tioakrolein hasil degradasi alisin mengalami interaksi kondensasi siklo-adisi biner, cincin heterosiklik beranggota enam yang mengandung dua atom sulfur dapat terbentuk secara spontan.



Gambar 5.2 Perubahan alisin dan senyawa bioaktif lainnya akibat pengolahan bawang putih

Karakteristik kimiawi vinilditiin ditandai dengan sifat hidrofobitas eksogen yang sangat tinggi, sehingga senyawa tersebut langsung bermigrasi ke dalam fasa nonpolar selama proses fraksinasi biner. Profil volatilitas vinilditiin yang moderat membuat vinilditiin menjadi salah satu marker penting dalam standardisasi produk minyak bawang putih komersial. Dialil sulfida (diallyl sulfide atau DAS) bersama dengan turunannya seperti dialil disulfida (DADS) dan dialil trisulfida (DATS) mewakili kelompok senyawa organosulfur alifatik linier yang sangat volatil. DAS terbentuk melalui pemutusan ikatan sulfur-sulfur pada molekul alisin yang diikuti dengan pelepasan atom sulfur bebas atau radikal alilsulfidil selama paparan distilasi uap atau evaporasi suhu tinggi. Secara struktural, DAS hanya memiliki satu atom sulfur monofungsional yang menjembatani dua gugus alil bebas, menjadikannya molekul paling sederhana dan paling stabil di antara kelompok tiosulfonat lain. Meskipun DAS memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba yang lebih rendah dibandingkan alisin murni akibat kehilangan gugus oksigen sulfoksida, namun DAS tetap menunjukkan stabilitas jangka panjang yang luar biasa pada suhu kamar. DAS, DADS, dan DATS sangat mudah menguap dan bertanggung jawab penuh atas profil aroma sensoris tajam yang dilepaskan oleh minyak atsiri tanaman *Allium*. Dalam kajian farmakologi molekuler modern, golongan dialil sulfida tersebut banyak

diteliti karena kemampuannya dalam memodulasi aktivitas enzim sitokrom P450 (CYP2E1) di dalam hati, yang berfungsi sebagai agen kemopreventif efektif terhadap induksi toksisitas senyawa karsinogenik eksogen.

D. Pengaruh Enzimatis versus Termal terhadap Kadar Alisin

Kadar alisin di dalam ekstrak tanaman genus *Allium* ditentukan oleh interaksi antara jalur aktivasi enzimatis dan jalur degradasi termal. Kedua faktor tersebut bekerja secara bertolak belakang dalam memengaruhi konsentrasi akhir alisin. Jalur enzimatis bertindak sebagai generator utama yang memicu pembentukan alisin dari prekursornya, sedangkan paparan termal bertindak sebagai eliminasi yang merombak struktur alisin menjadi senyawa organosulfur sekunder. Jalur aktivitas enzimatis mutlak diperlukan pada tahap awal untuk mengubah aliin (S-allil-L-sistein sulfoksida) menjadi alisin. Enzim aliinase yang teraktivasi akibat kerusakan mekanis jaringan sel akan memotong ikatan karbon-sulfur pada aliin dalam hitungan milidetik. Efisiensi konversi tersebut berlangsung optimal pada rentang suhu lingkungan yang moderat, yaitu antara 25°C hingga 37°C, dengan kondisi pH media yang mendekati netral (pH 6.0–6.5). Jika aktivitas enzimatis tersebut berjalan tanpa hambatan fisikokimia, maka kadar alisin dalam matriks simplisia akan mencapai titik jenuh tertinggi dalam waktu singkat setelah penghancuran jaringan.

Paparan termal memiliki pengaruh destruktif yang sangat kuat terhadap eksistensi alisin, baik sebelum maupun setelah senyawa tersebut terbentuk. Jika panas tinggi diaplikasikan pada jaringan bawang putih sebelum proses penghancuran sel seperti melalui perebusan, pengukusan, atau pemanasan menggunakan gelombang mikro, maka enzim aliinase akan mengalami denaturasi struktural secara ireversibel. Kerusakan termal pada struktur glikoprotein aliinase menginaktivasi sisi aktifnya secara total. Akibatnya, meskipun prekursor aliin di dalam vakuola tetap utuh, tapi konversi menjadi asam allilsulfonat tidak akan pernah terjadi, sehingga kadar alisin di

dalam matriks tersebut menjadi nol atau tidak terdeteksi. Jika panas diaplikasikan setelah alisin terbentuk di dalam media, pengaruh termal akan mengendalikan kinetika dekomposisi molekul tiosulfinat tersebut. Ikatan sulfur-sulfur terpolarisasi pada alisin memiliki energi bebas yang tinggi dan sangat sensitif terhadap eksitasi termal. Peningkatan suhu di atas 40°C secara eksponensial dapat mempercepat laju penataan ulang struktural (*rearrangement*) alisin. Energi panas memutus jembatan oksigen sulfoksida dan menghalangi terjadinya reaksi kondensasi sekunder yang mengubah alisin menjadi kelompok senyawa larut minyak yang lebih stabil seperti ajoene, vinilditiin, dan dialil disulfida (DADS).

Secara teoritis ditunjukkan bahwa kendali termal selalu membatasi atau menegasikan hasil dari proses enzimatis. Upaya memaksimalkan kadar alisin dalam skala eksperimental maupun industri memerlukan strategi isolasi yang ketat, di mana fase penghancuran mekanis untuk aktivasi enzimatis harus dilakukan pada suhu ruang, yang kemudian langsung diikuti dengan stabilisasi ekstrak pada suhu sangat rendah (-20°C hingga 4°C). Pendekatan biner tersebut memastikan bahwa enzim aliinase dapat menyelesaikan konversi aliin secara sempurna, sementara laju degradasi termal pasca-pembentukan alisin dapat ditekan seminimal mungkin untuk menjaga integritas senyawa aktif tersebut.

E. Mekanisme Degradasi Senyawa Organosulfur Volatil

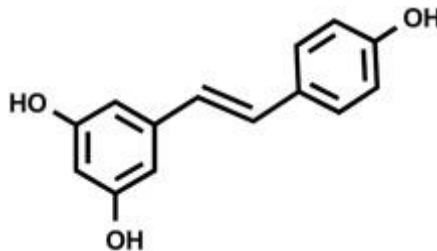
Mekanisme degradasi senyawa organosulfur volatil didominasi oleh serangkaian reaksi penataan ulang struktural (*rearrangement*), eliminasi, dan radikal bebas yang dipicu oleh instabilitas termodinamika molekul utamanya. Senyawa induk seperti alisin (dialil tiosulfinat) memiliki jembatan sulfur-sulfur terpolarisasi yang mengikat satu atom oksigen ($S(=O)-S$). Ikatan tersebut sangat labil dan memiliki energi bebas yang tinggi, sehingga sangat sensitif terhadap eksitasi termal dan perubahan polaritas lingkungan solven, bahkan pada kondisi suhu kamar. Tahap awal degenerasi alisin berlangsung melalui mekanisme

eliminasi- β internal yang tidak membutuhkan bantuan katalisator eksternal. Paparan energi termal menyebabkan pemutusan ikatan heterolitik pada jembatan tiosulfonat, menghasilkan dua molekul antara (*intermediate*) yang sangat reaktif secara simultan. Kedua senyawa antara tersebut adalah asam allilsulfonat ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{OH}$) dan tioakrolein ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{S}$). Kedua senyawa antara tersebut berumur sangat pendek (*transient*) dan langsung bertindak sebagai prekursor untuk semua jenis senyawa organosulfur volatil sekunder. Asam allilsulfonat yang terbebas akan segera mencari pasangannya untuk mengalami reaksi kondensasi sendiri (*self-condensation*) fasa cair. Jika dua molekul asam allilsulfonat berinteraksi, maka akan melepaskan satu molekul air (H_2O) dan berikatan kembali membentuk dialil disulfida (DADS) setelah melepaskan gugus oksigen, atau membentuk kembali alisin dalam kondisi kesetimbangan semu. Namun, dalam lingkungan yang bersifat hidrofobik atau lipidik, asam allilsulfonat lebih cenderung mengalami dehidrasi radikal menjadi dialil trisulfida (DATS) dan dialil tetrasulfida yang memiliki rantai sulfur linier lebih panjang dan stabil.

Tioakrolein di sisi lain menjadi senyawa utama dalam pembentukan senyawa turunan siklik melalui jalur sikloadisi Diels-Alder. Dua molekul tioakrolein dapat berinteraksi secara spontan di mana salah satu molekul bertindak sebagai diena dan molekul lainnya bertindak sebagai dienofil. Reaksi siklo-adisi biner tersebut menghasilkan senyawa heterosiklik beranggota enam yang dikenal sebagai vinilditiin, dengan dua isomer utama yaitu 2-vinil-4H-1,3-ditiin dan 3-vinil-4H-1,2-ditiin. Senyawa siklik tersebut kehilangan sifat volatil alifatiknya dan terlarut sebagai fraksi lipofilik tinggi.

Jika molekul tioakrolein berinteraksi langsung dengan sisa molekul alisin yang belum terdegradasi, fasa reaksi akan bergeser membentuk senyawa ajoene (Gambar 5.3). Interaksi spesifik tersebut menghasilkan jembatan tritasulfida linier yang mengikat satu gugus sulfoksida eksogen (E,Z-4,5,9-tritriadodeka-1,6,11-triena 9-oksida). Pembentukan ajoene sangat terbantu

oleh keberadaan pelarut polar aprotik atau pelarut alkohol seperti etanolik berkadar sedang melalui stabilisasi transisi muatan elektrofilik. Pada suhu yang jauh lebih tinggi, seperti pada proses distilasi uap atau pirolisis, mekanisme degradasi bergeser dari jalur molekuler murni menjadi jalur radikal bebas homolitik. Panas ekstrem memutus ikatan kovalen C-S dan S-S secara simetris, menghasilkan radikal alil ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2\cdot$) dan radikal alilsulfidil ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{S}\cdot$). Rekombinasi acak dari radikal-radikal bebas tersebut menghasilkan dialil sulfida (DAS) monofungsional yang melepaskan atom sulfur bebas ke dalam sistem, serta menghasilkan gas hidrogen sulfida (H_2S) yang volatil. Laju kinetika total dari seluruh rangkaian mekanisme degradasi organosulfur volatil mengikuti model reaksi orde pertama atau orde kedua tergantung pada tingkat konsentrasi awal solut. Faktor lingkungan seperti paparan oksigen atmosferik dan radiasi foton (sinar ultraviolet) bertindak sebagai akselerator yang radikal. Oksigen memicu autooksidasi pada gugus alil tak jenuh, sedangkan foton mengeksitasi pasangan elektron bebas pada atom sulfur, yang secara keseluruhan mempercepat penurunan kadar senyawa aktif volatil asli menuju bentuk sulfur tereduksi yang inert.



Gambar 5.3 Struktur Molekul Ajoene

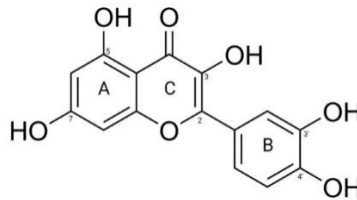
BAB 6

PROFIL SENYAWA NON-SULFUR BIOAKTIF DALAM EKSTRAK ETANOL

A. Identifikasi Flavonoid dan Senyawa Fenolik Utama

Ekstrak etanolik dari genus *Allium* tidak hanya menyimpan kompartemen organosulfur yang masif, melainkan juga mengomposisikan matriks senyawa non-sulfur bioaktif yang signifikan. Di antara kelompok non-sulfur tersebut, flavonoid dan senyawa fenolik utama menempati posisi sentral sebagai metabolit sekunder polifenolik yang berkontribusi besar terhadap kapasitas antioksidan eksogen ekstrak. Fleksibilitas etanol sebagai pelarut polar protik berkonsentrasi sedang hingga tinggi (50% hingga 96%) memfasilitasi penarikan molekul fenolik tersebut melalui pembentukan ikatan hidrogen yang stabil antara gugus hidroksil solut dengan molekul pelarut. Identifikasi fraksi flavonoid dalam ekstrak etanolik didominasi oleh golongan flavonol, dengan kuersetin (*quercetin*) dan turunannya sebagai marker molekuler yang paling melimpah. Secara struktural, kuersetin merupakan 3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon yang memiliki konfigurasi gugus fungsi ideal untuk meredam radikal bebas, termasuk keberadaan struktur pita orto-dihidroksi (gugus katekol) pada cincin B (Gambar 6.1). Di dalam sel tanaman, kuersetin biasa terikat pada gugus gula membentuk senyawa glikosida seperti isoquercitrin atau rutin. Penggunaan etanol berkadar sedang mampu menghidrolisis dinding sel sekaligus melarutkan bentuk glikosida polar, sementara etanol absolut cenderung lebih

selektif terhadap bentuk kuersetin aglikon yang bersifat semipolar.



Gambar 6.1 Struktur kimia kuersetin

Selain kuersetin, kelompok flavonol lain seperti kaempferol juga teridentifikasi dalam jumlah yang signifikan pada profil kromatografi ekstrak etanolik. Kaempferol memiliki struktur yang serupa dengan kuersetin namun kehilangan satu gugus hidroksil pada posisi C-3' di cincin B. Perbedaan struktural yang samar (tidak terlihat) tersebut dapat menurunkan indeks polaritas kaempferol secara mekanis, sehingga menjadikan senyawa tersebut bersifat sangat larut dalam fasa etanol konsentrasi tinggi. Kaempferol bersinergi dengan kuersetin dalam memodulasi jalur inflamasi seluler dan menunjukkan afinitas pengikatan yang kuat terhadap membran lipid pelindung sel. Senyawa golongan fenolik non-flavonoid dalam ekstrak etanolik didominasi oleh kelompok asam fenolat, yang terbagi menjadi turunan asam hidroksibenzoat dan asam hidroksisinamat. Asam galat dan asam protokatekuat merupakan senyawa utama dari turunan asam hidroksibenzoat yang teridentifikasi. Senyawa-senyawa tersebut memiliki struktur cincin benzena sederhana yang mengikat langsung gugus karboksilat dan beberapa gugus hidroksil fenolik bebas. Kelarutan yang tinggi dalam sistem biner etanol-air memungkinkan penarikan asam-asam fenolat tersebut berjalan sangat sempurna selama proses maserasi.

Turunan asam hidroksisinamat yang mendominasi profil ekstrak meliputi asam ferulat, asam p-kumarat, dan asam kafeat. Senyawa golongan tersebut dicirikan oleh keberadaan rantai samping propanoid tak jenuh (C3) yang berikatan dengan cincin aromatik (C6). Karakteristik kimiawi asam hidroksisinamat

memberikan sifat hidrofobitas yang sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan turunan asam hidroksibenzoat. Keberadaan etanol sangat penting untuk memutuskan ikatan kovalen ester atau eter yang mengikat asam ferulat pada matriks lignoselulosa dinding sel tanaman, sehingga membebaskan asam fenolat tersebut ke dalam cairan ekstrak massal.

Secara analitis, identifikasi dan kuantifikasi seluruh profil flavonoid dan senyawa fenolik utama dilakukan menggunakan instrumentasi canggih seperti *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yang dilengkapi dengan detektor *Diode Array Detector* (DAD) atau disatukan dengan *Mass Spectrometry* (LC-MS). Pemisahan komponen pada kolom fase terbalik (*reversed-phase* C-18) mengandalkan perbedaan afinitas hidrofobik molekul fenolik terhadap fase diam silika teralkilasi. Profil elusi menunjukkan bahwa asam fenolat yang lebih polar dapat keluar terlebih dahulu, diikuti oleh flavonoid glikosida, dan diakhiri oleh fraksi flavonoid aglikon bebas, yang secara keseluruhan membentuk sidik jari kromatografi (*chromatographic fingerprint*) yang valid untuk standardisasi mutu ekstrak non-sulfur.

B. Keberadaan Saponin dan Profil Glikosida Bawang Putih

Ekstrak etano bawang putih (*Allium sativum*) selain kaya akan komponen organosulfur dan flavonoid, juga banyak mengandung senyawa non-sulfur fungsional yang masif berupa saponin dan berbagai jenis glikosida. Keberadaan kelompok senyawa tersebut sering luput dari perhatian utama karena aromanya yang tereduksi oleh senyawa volatil, namun fasa non-sulfur tersebut memiliki stabilitas termal yang jauh lebih tinggi dan memberikan kontribusi farmakologis yang signifikan. Etanol sebagai pelarut polar protik dengan kadar sedang hingga tinggi (50% hingga 80%) bertindak sebagai solven ideal yang mampu menghidrolisis ikatan matriks sel sekaligus melarutkan gugus gula polar yang terikat pada struktur molekul glikosida tersebut.

Saponin yang teridentifikasi dalam bawang putih sebagian besar termasuk dalam kelompok saponin steroidal dan sebagian kecil saponin triterpenoid. Secara struktural, saponin steroidal bawang putih memiliki inti aglikon berupa cincin siklopentanoperhidrofenantrena (sapogenin) yang berikatan kovalen dengan satu atau lebih rantai oligosakarida melalui ikatan glikosidik. Komponen utama saponin steroidal yang melimpah dan bersifat marker spesifik adalah erubosida B dan sativosida (terutama sativosida B1). Sifat amfifilik yang kuat dari senyawa tersebut berasal dari kombinasi inti sapogenin lipofilik dan ekor gula hidrofilik membuat saponin bertindak sebagai surfaktan alami yang memicu pembentukan busa persisten saat diekstraksi dalam media biner etanol-air.

Profil glikosida dalam bawang putih tidak hanya terbatas pada bentuk saponin steroidal, melainkan juga mencakup glikosida fenolik dan glikosida sulfur non-volatil. Glikosida fenolik diwakili oleh bentuk kuersetin glikosida dan kaempferol glikosida, di mana gugus aglikon flavonoid mengikat molekul glukosa atau rutinosa pada posisi atom C-3 atau C-7. Selain itu, terdapat senyawa utama bernama S-allil-L-sistein sulfoksida (alliin) dan peptida G-glutamil yang merupakan bentuk konjugat asam amino dan glikosida non-volatil. Kelompok glikosida non-volatil tersebut bertindak sebagai sarana penyimpanan bagi senyawa aktif tanaman sebelum mengalami pemecahan oleh enzim endogen.

Dinamika kelarutan profil glikosida sangat bergantung pada rasio air di dalam sistem biner pelarut etanol. Penggunaan etanol absolut (99.9%) cenderung kurang efisien untuk menarik saponin steroidal berantai gula panjang (seperti bentuk furostanol saponin yang mengikat banyak molekul glukosa) karena keterbatasan kapasitas pembentukan ikatan hidrogen. Sebaliknya, penurunan konsentrasi etanol menuju kadar 50% hingga 70% secara eksponensial mampu meningkatkan konstanta dielektrik medium pelarut. Kondisi tersebut memberikan ruang solvasi yang luas bagi gugus gula polar, sehingga desorpsi saponin dan glikosida dari vakuola tanaman

dapat berjalan secara sempurna dan menghasilkan rendemen fraksi non-sulfur yang maksimal.

Secara analitis, identifikasi keberadaan saponin dan profil glikosida menghadapi tantangan mekanis karena sebagian besar senyawa tersebut tidak memiliki kromofor kuat yang dapat menyerap radiasi ultraviolet secara langsung. Sehingga analisis menggunakan instrumen HPLC konvensional sering memerlukan teknik derivatisasi pasca-kolom atau beralih menggunakan detektor alternatif seperti *Evaporative Light Scattering Detector* (ELSD) dan *Refractive Index Detector* (RID). Standardisasi modern yang paling valid dilakukan menggunakan LC-MS/MS berbasis ionisasi *Electrospray Ionization* (ESI), di mana deteksi molekul induk didasarkan pada pembentukan kompleks natrium $[M^+Na]^+$ atau hidrogen $[M^+H]^+$ serta pola fragmentasi pelepasan unit-unit gula spesifik (seperti glukosa, rhamnosa, atau galaktosa) untuk mengonfirmasi struktur glikosida secara absolut.

C. Kandungan Minyak Atsiri Non-Sulfur

Ekstrak etanolik dari genus *Allium* selain menyimpan senyawa organosulfur yang masif, juga terkandung fraksi volatil non-sulfur yang dikategorikan sebagai minyak atsiri non-sulfur. Senyawa tersebut sering kali luput dari karakterisasi utama karena dominasi aroma sulfur yang pekat, namun secara empiris fasa non-sulfur tersebut memberikan kontribusi yang signifikan terhadap profil sensoris, fungsional, dan aktivitas biologis total dari ekstrak. Etanol bertindak sebagai pelarut universal yang sangat efisien untuk menarik kelompok senyawa volatil hidrofobik dari matriks kelenjar minyak tanaman tanpa memicu dekomposisi radikal.

Kandungan minyak atsiri non-sulfur dalam ekstrak didominasi oleh kelompok senyawa terpenoid, yang terbagi atas fraksi monoterpena dan sesquiterpena beserta turunan teroksigenasinya (*terpenoid oksigenasi*). Senyawa monoterpena seperti limonen, α -pinen, dan β -pinen teridentifikasi dalam jumlah sangat sedikit namun konstan pada analisis fasa gas.

73

Senyawa-senyawa monoterpen tersebut memiliki struktur hidrokarbon siklik atau asiklik berat atom karbon sepuluh (C₁₀) yang memberikan karakteristik volatilitas tinggi dan berperan sebagai komponen penentu aroma dasar (top note) sebelum dihasilkan aroma sulfur yang menyengat. Fraksi sesquiterpena (C₁₅) memiliki bobot molekul yang lebih tinggi dan struktur yang lebih kompleks dibandingkan monoterpena, sehingga bersifat kurang volatil tetapi memiliki stabilitas termal yang lebih baik selama proses evaporasi pelarut. Senyawa seperti β -kariofilen, aromadendren, dan α -humulen merupakan representasi sesquiterpena hidrokarbon yang kerap diidentifikasi dalam fraksi minyak atsiri non-sulfur. Keberadaan gugus cincin tak jenuh pada sesquiterpena memberikan densitas elektron yang unik, yang berkontribusi pada aktivitas anti-inflamasi dan kemampuan untuk berpenetrasi menembus lapisan lipid ganda pada membran sel bakteri. Selain golongan terpenoid, kompartemen minyak atsiri non-sulfur juga kaya akan senyawa turunan fenilpropanoid dan hidrokarbon alifatik rantai pendek seperti aldehida, alkohol, dan ester non-sulfur. Senyawa-senyawa seperti heksanal, 2-heksenal, dan nonanal terbentuk melalui jalur kelangsungan lipid (*lipooxygenase pathway*) saat jaringan tanaman mengalami hidrasi dan penghancuran mekanis awal. Senyawa volatil turunan asam lemak tersebut memberikan nuansa aroma hijau (*green odor*) dan memiliki sifat fungisidal alami yang bersinergi dengan senyawa organosulfur dalam sistem pertahanan tumbuhan.

17

Identifikasi dan pemetaan seluruh komponen minyak atsiri non-sulfur tidak dapat dilakukan dengan kromatografi cair konvensional akibat ketiadaan gugus kromofor dan sifat minyak atsiri tersebut yang mudah menguap. Instrumentasi rujukan utama yang dapat digunakan adalah *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) yang dilengkapi dengan sistem injeksi *Headspace* atau *Solid-Phase Microextraction* (SPME) untuk menyampling fasa uap di atas matriks ekstrak. Pemisahan dilakukan menggunakan kolom kapiler nonpolar (seperti HP-5MS) di mana komponen non-sulfur dapat dielusi berdasarkan

titik didih dan viskositasnya, sehingga menghasilkan pola fragmentasi massa (*mass spectra*) yang disesuaikan dengan basis data pustaka NIST untuk mengonfirmasi identitas kimiawi masing-masing komponen secara absolut.

D. Aktivitas Sinergis antara Senyawa Sulfur dan Non-Sulfur

Aktivitas sinergis antara senyawa sulfur dan non-sulfur dalam ekstrak etanolik dari genus *Allium* merupakan fenomena farmakologis yang kompleks. Efek terapi yang dihasilkan tidak sekadar akumulasi linear dari masing-masing komponen, melainkan hasil dari interaksi antar komponen pada tingkat molekuler. Kombinasi biner antara organosulfur volatil yang reaktif dan polifenol non-sulfur yang stabil menghasilkan aktivitas antioksidan dan antimikroba dengan efisiensi fungsional yang jauh lebih tinggi. Pada sistem perlindungan terhadap stres oksidatif, mekanisme sinergis bekerja melalui jalur induksi dan penangkapan radikal bebas yang saling melengkapi. Senyawa non-sulfur seperti kuersetin dan asam fenolat bertindak sebagai penangkap radikal bebas primer (*primary radical scavengers*) di fasa cair. Gugus orto-dihidroksi pada cincin aromatik flavonoid dengan sangat cepat mendonorkan atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas eksogen. Setelah molekul non-sulfur tersebut teroksidasi menjadi radikal fenoksil yang kurang reaktif, senyawa organosulfur seperti alisin atau dialil disulfida (DADS) dapat masuk ke dalam siklus regenerasi. Senyawa sulfur tersebut mendonorkan gugus tiol atau atom hidrogen dari posisi aliliknya untuk mereduksi kembali radikal fenoksil menjadi bentuk flavonoid aktif semula. Melalui mekanisme tersebut, maka kapasitas antioksidan total ekstrak biner dapat dipertahankan dalam durasi yang jauh lebih lama dibandingkan dengan penggunaan senyawa murni secara terisolasi. Kelompok organosulfur juga berkontribusi meningkatkan sintesis antioksidan endogen tubuh seperti glutathione (*glutathione*) melalui aktivasi jalur transkripsi Nrf2, yang melipatgandakan efek pertahanan seluler yang diinisiasi oleh polifenol.

Dalam konteks aktivitas antimikroba, sinergisme kedua kelompok senyawa terjadi melalui mekanisme gangguan dinding sel dan inhibisi enzimatis secara simultan. Minyak atsiri non-sulfur (seperti sesquiterpena) dan flavonoid aglikon yang bersifat lipofilik bertindak sebagai agen pengganggu stabilitas permukaan sel. Senyawa-senyawa tersebut menembus ke dalam lapisan lipid ganda pada membran sel bakteri, sehingga meningkatkan fluiditas membran dan melunakkan struktur dinding selulosa atau peptidoglikan yang kaku. Peningkatan permeabilitas membran sel akibat penetrasi senyawa non-sulfur membuka jalan pintas bagi senyawa organosulfur seperti alisin untuk masuk ke dalam sitoplasma bakteri tanpa hambatan barier mekanis. Setelah berada di dalam sitoplasma, alisin yang bersifat elektrofilik kuat dapat langsung menyerang dan mengoksidasi gugus tiol ($-SH$) pada protein struktural dan enzim-enzim metabolisme esensial bakteri, seperti RNA polimerase dan alkohol dehidrogenase. Kombinasi serangan eksternal pada membran oleh fasa non-sulfur dan inaktivasi internal fasa sulfur menyebabkan lisis seluler yang cepat dan ireversibel pada patogen target. Aktivitas sinergis antar senyawa dibuktikan dan dievaluasi di laboratorium melalui penentuan nilai *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI) untuk uji antimikroba, atau menggunakan kurva isobologram untuk kapasitas antioksidan. Hasil eksperimen secara konsisten menunjukkan nilai FICI di bawah 0,5, yang secara valid mengonfirmasi adanya interaksi sinergis sejati antara fraksi organosulfur dan polifenol non-sulfur. Standardisasi produk berbasis ekstrak etanolik modern wajib mempertahankan keberadaan kedua kelompok senyawa tersebut secara seimbang demi menjamin efikasi klinis yang optimal dan mencegah resistensi organisme target.

E. Kontribusi Senyawa Fenolik terhadap Kapasitas Antioksidan Ekstrak

Kapasitas antioksidan total dari ekstrak etanolik tanaman genus *Allium* sangat ditentukan oleh kontribusi mekanis senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung di dalamnya. Walaupun komponen organosulfur sering dianggap sebagai penciri utama, kelompok senyawa polifenolik non-sulfur bertindak sebagai pilar pertahanan primer dalam menetralkan spesi oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species* / ROS) melalui jalur transfer elektron atau donor atom hidrogen yang sangat cepat. Fleksibilitas struktur kovalen pada cincin aromatik senyawa fenolik memberikan stabilitas termodinamika yang tinggi saat menangkap radikal bebas eksogen. Mekanisme kontribusi antioksidan dari senyawa fenolik, khususnya turunan asam hidroksibenzoat dan asam hidroksisinamat, bertumpu pada keberadaan gugus hidroksil ($-OH$) bebas yang terikat langsung pada cincin benzena. Ketika radikal bebas yang tidak stabil seperti radikal hidroksil ($\cdot OH$) atau DPPH ($\cdot$) mendekati matriks fenolik, atom hidrogen dari gugus hidroksil fenol dapat didonorkan secara homolitik untuk menstabilkan spesi radikal tersebut. Proses pendonoran tersebut mengubah molekul fenolik menjadi radikal fenoksil intermediet yang bersifat kurang reaktif.

Stabilitas radikal fenoksil intermediet dapat dipertahankan melalui fenomena delokalisasi elektron di sepanjang sistem ikatan pi (π) terkonjugasi pada cincin aromatik. Densitas elektron yang tersebar merata di seluruh struktur cincin mencegah radikal fenoksil untuk menginisiasi reaksi rantai autooksidasi baru pada molekul lipid seluler di sekitarnya. Pada turunan asam hidroksisinamat seperti asam ferulat dan asam kafeat, keberadaan ikatan rangkap dua eksosiklik pada rantai samping propanoid semakin memperluas area delokalisasi elektron, sehingga memberikan kapasitas peredaman radikal yang jauh lebih kuat dibandingkan dengan turunan asam hidroksibenzoat yang berstruktur lebih sederhana.

Senyawa flavonoid, terutama golongan flavonol seperti kuersetin, memberikan kontribusi antioksidan yang paling masif akibat konfigurasi strukturalnya yang ideal. Kuersetin memiliki tiga bentuk struktural utama yang memaksimalkan kapasitas antioksidannya, yaitu struktur pita orto-dihidroksi (gugus katekol) pada cincin B, ikatan rangkap 2,3 yang terkonjugasi dengan gugus 4-oxo pada cincin C, serta gugus 3-hidroksi pada cincin C. Konfigurasi spesifik tersebut memungkinkan kuersetin tidak hanya bertindak sebagai penangkap radikal bebas yang andal, melainkan juga berfungsi sebagai agen pengelat (*chelating agent*) untuk mengikat ion logam transisi seperti besi (Fe^{2+}) dan tembaga (Cu^{2+}) yang memicu reaksi Fenton pembentuk radikal hidroksil destruktif.

Kontribusi senyawa fenolik terhadap kapasitas antioksidan total ekstrak dievaluasi secara kuantitatif melalui uji korelasi linear antara parameter *Total Phenolic Content* (TPC) atau *Total Flavonoid Content* (TFC) dengan nilai IC_{50} dari berbagai metode pengujian antioksidan seperti DPPH, ABTS, dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Analisis regresi multivariat secara konsisten menunjukkan koefisien korelasi (R^2) yang mendekati nilai 0.9, yang secara valid membuktikan bahwa fluktuasi kapasitas antioksidan suatu ekstrak etanol berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa fenolik yang berhasil terisolasi selama proses optimasi pelarut biner tersebut.

BAB 7

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BAWANG PUTIH

A. Uji Sensitivitas *In Vitro*: Metode Difusi Cakram dan Sumuran

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) secara *in vitro* merupakan tahapan fundamental untuk membuktikan efikasi biomedis dari senyawa bioaktif yang terkandung di dalam bawang putih. Evaluasi tersebut menjadi sangat krusial di tengah krisis global resistensi antibiotik, bakteri patogen terus berevolusi dan membangun mekanisme pertahanan terhadap obat-obatan sintetik komersial. Melalui pengujian di laboratorium, karakteristik multikomponen aktif dari ekstrak bahan alam dapat diobservasi secara langsung untuk melihat kekuatannya dalam menghambat koloni mikroba target. Dua metode standar difusi yang paling universal dan diakui secara ilmiah untuk mengevaluasi sensitivitas mikroba patogen target terhadap antimikroba yaitu difusi cakram (*disk diffusion*) dan difusi sumuran (*well diffusion*). Kedua difusi tersebut memberikan visualisasi yang jelas dan terukur terkait interaksi antara zat antimikroba alami dengan sel bakteri patogen pada media pertumbuhan padat. Metode difusi cakram dilakukan dengan menggunakan kertas saring berbentuk cakram steril yang telah dijenuhkan dengan ekstrak etanol bawang putih pada berbagai tingkat konsentrasi. Kertas cakram berpenyerap tersebut kemudian diletakkan secara aseptik di atas permukaan media agar seperti Mueller-Hinton yang sebelumnya telah diinokulasi secara merata dengan suspensi bakteri uji standar (seperti *E. coli*

dan *S. aureus*). Prinsip dasar metode tersebut berdasarkan pada kemampuan zat aktif untuk berdifusi secara radial dari kertas cakram ke dalam matriks media agar selama waktu inkubasi. Proses difusi tersebut menciptakan gradien konsentrasi zat aktif antibakteri di sekeliling cakram. Konsentrasi zat aktif tertinggi berada pada area yang paling dekat dengan cakram, dan kadarnya akan menurun secara logaritmik seiring bertambah jarak difusi dari pusat cakram.

Selama masa inkubasi yang berkisar antara 18 hingga 24 jam pada suhu optimal pertumbuhan bakteri, aktivitas penghambatan zat aktif mulai terlihat secara fisik. Area jernih di sekitar kertas cakram yang tidak ditumbuhi oleh koloni bakteri menandakan terdapat inhibisi (penghambatan) pertumbuhan yang sukses, dan area tersebut dikenal sebagai zona hambat atau *zone of inhibition*. Diameter zona jernih diukur secara presisi menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter untuk menentukan tingkat sensitivitas bakteri terhadap ekstrak. Semakin luas diameter zona hambat yang terbentuk, maka semakin tinggi pula tingkat sensitivitas bakteri tersebut terhadap komponen fitokimia bawang putih. Keunggulan utama dari metode difusi cakram terletak pada efisiensi pengerjaan, replikasi yang mudah, serta kebutuhan jumlah sampel ekstrak yang relatif sedikit untuk setiap pengujian. Di sisi lain, metode difusi sumuran menawarkan pendekatan teknis yang sedikit berbeda dengan cara membuat lubang atau sumuran silindris secara langsung pada matriks media agar. Lubang sumuran dibuat menggunakan alat pelubang agar (*cork borer*) steril dengan diameter standar yang berkisar antara 6 hingga 8 milimeter. Sejumlah volume tertentu dari ekstrak etanol bawang putih kemudian dimasukkan langsung ke dalam lubang sumuran media agar menggunakan mikropipet. Perbedaan struktural metode difusi sumuran dengan metode difusi cakram adalah memungkinkan zat antibakteri cair berkontak langsung dengan dinding vertikal media agar-agar tanpa ada hambatan mekanis dari serat kertas saring. Kondisi fisik tersebut sangat menguntungkan bagi pengujian ekstrak

bahan alam yang memiliki tingkat viskositas medium hingga tinggi atau molekul bioaktif yang memiliki berat molekul besar.

Prinsip difusi zat aktif pada metode sumuran tetap mengikuti hukum pergerakan partikel cair dalam medium semi-padat secara radial. Namun, volume ekstrak yang ditampung di dalam lubang sumuran jauh lebih besar dan konstan jika dibandingkan dengan volume yang mampu diserap oleh selebar kertas cakram. Kapasitas tampung yang lebih besar tersebut menghasilkan tekanan hidrostatik lokal yang mendorong penetrasi senyawa bioaktif bawang putih secara lebih masif ke dalam media agar di sekitarnya. Alhasil, gradien konsentrasi yang terbentuk di sekitar sumuran cenderung lebih stabil dan bertahan lebih lama selama fase awal inkubasi mikroba. Parameter evaluasi akhir pada metode sumuran tetap mengandalkan pengukuran diameter zona jernih di sekeliling lubang yang mencerminkan efektivitas letal zat aktif. Secara komparatif, metode difusi sumuran sering menghasilkan diameter zona hambat yang lebih luas dibandingkan dengan metode difusi cakram pada konsentrasi ekstrak bawang putih yang sama. Hal tersebut dapat terjadi karena kertas cakram terkadang menahan sebagian senyawa hidrofobik atau molekul berukuran besar di dalam matriks serat selulosanya sehingga membatasi laju difusi bebas ke media. Sumuran agar mengeliminasi kendala retensi fisik tersebut sehingga seluruh spektrum senyawa metabolit sekunder bawang putih dapat berpenetrasi secara optimal. Walaupun demikian, pembuatan lubang sumuran menuntut keterampilan teknis yang lebih tinggi agar tidak merusak struktur mekanis gel agar di sekitarnya. Keretakan kecil pada dinding sumuran dapat menyebabkan kebocoran cairan ekstrak yang akan mendistorsi bentuk simetris dari zona hambat yang terbentuk.

Keberhasilan pembentukan zona hambat pada kedua jenis metode difusi sangat dipengaruhi oleh sifat fisikokimia dari pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi tumbuhan. Etanol merupakan pelarut polar yang sangat efektif untuk menarik berbagai senyawa metabolit sekunder penting dari

89 umbi bawang putih seperti alisin, flavonoid, saponin, dan komponen organosulfur lain. Kelarutan senyawa-senyawa bioaktif di dalam air dan kemampuannya untuk berdifusi melalui pori-pori media gel agar-agar menjadi faktor penentu utama luas zona inhibisi. Senyawa yang bersifat polar dan memiliki berat molekul rendah akan bergerak lebih cepat dan meluas di dalam media agar yang kaya air. Sebaliknya, komponen yang bersifat kurang polar (semi polart) akan bergerak lebih lambat dan terkonsentrasi hanya di dekat pusat sumuran atau cakram. Faktor biologis dari bakteri uji juga memegang peranan krusial dalam menentukan variasi diameter zona hambat yang teramati di laboratorium. Bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus aureus* umumnya menunjukkan sensitivitas yang lebih tinggi terhadap ekstrak etanol bawang putih dibandingkan dengan bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli*. Perbedaan sensitivitas antar-kelompok mikroba berawal pada perbedaan arsitektur dan komposisi biokimia dinding sel masing-masing bakteri. Bakteri Gram-negatif memiliki membran luar tambahan yang kaya lipopolisakarida dan bertindak sebagai penghalang hidrofobik yang selektif. Struktur membran luar yang kompleks tersebut mempersulit penetrasi molekul antibakteri bawang putih untuk mencapai target intraseluler atau merusak membran sitoplasma bakteri.

63 36 Standardisasi seluruh parameter pengujian merupakan prasyarat mutlak untuk menghasilkan data sensitivitas *in vitro* yang valid, empiris, dan dapat direproduksi. Densitas suspensi bakteri yang diinokulasikan harus disetarakan secara ketat dengan standar kekeruhan MacFarland 0,5 yang setara dengan kepadatan sel mikroba tertentu. Jika inokulum bakteri terlalu padat, maka zona hambat yang terbentuk akan tampak lebih kecil dari yang seharusnya akibat pertumbuhan koloni yang terlalu masif. Sebaliknya, inokulum yang terlalu encer akan menghasilkan zona hambat yang tampak besar secara semu karena bakteri lambat menutupi permukaan agar. Faktor lain seperti ketebalan media agar di dalam cawan petri harus dijaga konsisten pada ketebalan 4 milimeter untuk memastikan volume

difusi lateral tidak terganggu oleh variasi kedalaman vertikal media agar.

Secara keseluruhan, hasil uji sensitivitas melalui metode difusi cakram dan sumuran memberikan landasan empiris yang kuat untuk mengevaluasi potensi terapeutik bawang putih. Data kuantitatif berupa diameter zona hambat dalam milimeter dapat dikategorikan ke dalam tingkat aktivitas lemah, sedang, kuat, atau sangat kuat berdasarkan standar yang akurat. Pemahaman mekanistik mengenai kelebihan dan keterbatasan teknis masing-masing metode difusi membantu para peneliti dalam menginterpretasikan data secara logis dan objektif. Investigasi laboratorium menjadi jembatan ilmiah yang esensial sebelum melangkah ke tahapan pengujian yang lebih kompleks. Pengujian lanjutan tersebut mencakup penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) maupun evaluasi toksisitas secara *in vivo* guna merealisasikan bawang putih sebagai agen antibakteri herbal yang presisi.

B. Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) atau Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan tahapan krusial untuk mengkuantifikasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) secara lebih presisi. Jika metode difusi hanya memberikan indikasi kualitatif mengenai sensitivitas bakteri melalui keberadaan zona hambat, maka uji MIC menetapkan nilai konsentrasi absolut terendah dari ekstrak yang mampu mencegah pertumbuhan makroskopis bakteri target. Parameter kuantitatif ini menjadi fondasi ilmiah yang sangat penting dalam farmakologi untuk menentukan efikasi obat dan membandingkan kekuatan zat antimikroba alami dengan antibiotik standar. Nilai MIC yang rendah mengindikasikan bahwa ekstrak etanol bawang putih memiliki potensi bioaktivitas yang tinggi, sehingga hanya memerlukan dosis kecil untuk menghentikan proliferasi patogen. Pengujian KHM yang umum dilakukan menggunakan metode dilusi, baik

metode dilusi tabung (*tube dilution*) maupun dilusi mikro (*microdilution*) memakai *microtiter plate*.

Metode dilusi cair menggunakan microplate 96 sumuran (*96-well microtiter plate*) yang paling sering digunakan karena efisiensi dan akurasi yang tinggi. Prinsip dasar pengujian tersebut melibatkan pembuatan seri pengenceran bertingkat dua kali (*two-fold serial dilution*) dari ekstrak etanol bawang putih di dalam media cair Mueller-Hinton Broth (MHB). Proses pengenceran menghasilkan gradien konsentrasi ekstrak yang menurun secara geometris pada setiap sumuran microplate yang berurutan, misalnya mulai dari konsentrasi tertinggi hingga konsentrasi terendah. Ke dalam setiap sumuran yang telah berisi seri konsentrasi ekstrak tersebut, dimasukkan suspensi bakteri uji dengan volume dan kepadatan sel yang telah distandardisasi secara ketat. Evaluasi dilakukan setelah pelat mikro diinkubasi pada suhu optimal selama periode waktu tertentu untuk memberikan kesempatan bagi bakteri untuk tumbuh atau terhambat oleh senyawa aktif. Selama proses inkubasi, molekul bioaktif dalam ekstrak etanol bawang putih seperti alisin dan senyawa organosulfur lainnya akan berinteraksi langsung dengan sel bakteri di dalam medium cair. Senyawa-senyawa tersebut bekerja mengganggu integritas membran sel, menghambat sintesis protein, atau merusak sistem enzim esensial bakteri sehingga replikasi seluler terhenti. Keberhasilan hambatan diamati secara visual berdasarkan tingkat kejernihan medium pada masing-masing sumuran setelah masa inkubasi berakhir atau dilakukan pengukuran absorpsi dengan menggunakan nano spektrofotometri pada panjang gelombang tertentu. Sumuran yang menunjukkan medium tetap jernih menandakan bahwa konsentrasi ekstrak pada sumuran tersebut cukup kuat untuk mencegah pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, sumuran yang tampak keruh menandakan bahwa konsentrasi ekstrak terlalu rendah sehingga bakteri tetap dapat membelah diri dan tumbuh subur di dalam medium.

Secara definisi, nilai MIC ditetapkan pada konsentrasi ekstrak terendah yang menunjukkan tampilan media yang benar-benar jernih secara visual tanpa ada kekeruhan sama sekali. Penilaian visual sering menghadapi tantangan objektivitas ketika ekstrak tanaman yang diuji memiliki warna pekat atau kekeruhan alami akibat sifat kelarutan zat fitokimia. Ekstrak etanol bawang putih pada konsentrasi tinggi cenderung berwarna kekuningan atau sedikit keruh, yang dapat menyamarkan pertumbuhan bakteri yang sebenarnya. Dalam mengatasi kendala optik ini, para peneliti memanfaatkan indikator redoks kolorimetrik seperti larutan resazurin atau triphenyl tetrazolium chloride (TTC). Penambahan indikator ini mendeteksi aktivitas metabolisme seluler bakteri hidup yang melepaskan enzim dehidrogenase untuk mereduksi zat warna, sehingga menghasilkan perubahan warna yang kontras dan mudah diamati.

Penggunaan indikator resazurin akan mengubah warna medium dari biru menjadi merah muda atau merah jika terdapat sel bakteri yang aktif bernapas dan tumbuh di dalam sumuran. Jika pertumbuhan bakteri terhambat total oleh kerja ekstrak bawang putih, maka warna resazurin akan tetap berwarna biru gelap karena tidak terjadi reaksi reduksi enzimatik. Implementasi teknik kolorimetrik tersebut meningkatkan akurasi penentuan nilai MIC secara signifikan serta meminimalkan kesalahan interpretasi manusia akibat bias warna ekstrak tumbuhan. Selain metode kolorimetrik visual, pengukuran densitas optik menggunakan alat microplate reader pada panjang gelombang tertentu juga sering diterapkan untuk mendapatkan data kuantitatif yang objektif. Penurunan nilai absorbansi yang drastis pada konsentrasi tertentu memastikan penghentian pertumbuhan massa sel bakteri secara linear dan ilmiah.

Karakteristik nilai MIC ekstrak etanol bawang putih sangat bervariasi tergantung pada jenis mikroba patogen target yang diuji di laboratorium. Bakteri Gram-positif sensitif seperti *Staphylococcus aureus* biasa menunjukkan nilai MIC yang jauh

lebih rendah dibandingkan dengan bakteri Gram-negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*. Kerentanan yang lebih tinggi pada kelompok bakteri Gram-positif disebabkan oleh tidak adanya membran luar lipopolisakarida, sehingga senyawa organosulfur dapat menembus peptidoglikan dengan lebih mudah. Alisin yang terkandung di dalam ekstrak dapat langsung bereaksi dengan gugus tiol dari protein seluler bakteri Gram-positif, merusak fungsi biokimia sel secara instan. Sementara itu, porin pada membran luar bakteri Gram-negatif membatasi masuknya molekul hidrofobik berukuran besar, sehingga memerlukan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi untuk mencapai efek inhibisi yang setara. Faktor metodologis seperti standardisasi jumlah inokulum awal bakteri juga memegang peranan yang sangat kritis dalam menentukan validitas nilai MIC. Konsentrasi inokulum bakteri yang disepakati secara internasional untuk uji dilusi cair adalah sekitar 5×10^5 colony forming units per mililiter (CFU/mL). Jika densitas inokulum awal terlalu tinggi, maka efek inokulum (*inoculum effect*) akan terjadi, nilai MIC yang teramati menjadi lebih tinggi secara semu. Hal ini terjadi karena jumlah molekul antibakteri yang tersedia di dalam sumuran habis berikatan dengan sebagian sel bakteri, sementara sel bakteri lain yang tersisa tetap dapat bereplikasi. Standardisasi yang dilakukan memastikan bahwa variasi nilai MIC yang diperoleh antar-penelitian murni disebabkan oleh perbedaan potensi ekstrak, bukan karena perbedaan jumlah bakteri yang diuji.

Selain kontrol bakteri, rancangan eksperimen uji MIC wajib menyertakan kontrol kualitas yang ketat berupa kontrol pertumbuhan (kontrol negatif), kontrol sterilitas, dan kontrol positif antibiotik. Kontrol pertumbuhan berisi campuran media cair dan suspensi bakteri tanpa penambahan ekstrak bawang putih untuk memastikan bahwa bakteri dapat tumbuh dengan baik selama inkubasi. Kontrol sterilitas hanya berisi media cair dan ekstrak guna menjamin bahwa seluruh bahan dan peralatan yang digunakan bebas dari kontaminasi mikroba luar. Di sisi lain, kontrol positif menggunakan antibiotik komersial standar

seperti siprofloksasin atau amoksisilin yang dipakai sebagai tolok ukur komparatif untuk memvalidasi sensitivitas strain bakteri yang digunakan. Kehadiran kontrol-kontrol tersebut untuk menvalidasi ketepatan metode yang digunakan, sehingga kejernihan atau kekeruhan kultur bakteri yang kontak dengan bakteri uji benar-benar merepresentasikan interaksi bioaktif dengan bakteri uji secara valid. Secara komparatif, penentuan MIC menggunakan metode dilusi cair mikro tersebut memiliki keunggulan substantif yang jauh lebih besar daripada metode dilusi tabung konvensional. Penggunaan pelat mikro menghemat volume sampel ekstrak etanol bawang putih dan media pertumbuhan dalam jumlah yang sangat signifikan, sehingga memungkinkan pengujian replikasi multipel secara simultan. Efisiensi ruang dan bahan yang digunakan juga mempermudah pengujian berbagai variasi waktu panen umbi bawang putih atau metode ekstraksi yang berbeda dalam satu kali running eksperimen. Data MIC yang diperoleh dari metode tersebut memberikan informasi dosis ambang batas minimal yang diperlukan untuk memformulasi sediaan antimikroba alami berbasis herbal di masa depan. Pemetaan nilai MIC menjadi parameter ilmiah utama sebelum melangkah ke pengujian *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) untuk mengetahui sifat letal ekstrak.

Data kuantitatif nilai MIC dapat memperkuat posisi fitofarmaka ekstrak etanol bawang putih sebagai agen antibakteri yang menjanjikan. Kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi rendah membuktikan kelayakan dari komponen kimia aktif bawang putih untuk dikembangkan lebih lanjut. Pemahaman logis mengenai mekanisme interaksi senyawa organosulfur dengan target seluler pada tingkat konsentrasi minimal diharapkan dapat memperkaya khazanah keilmuan biomedis. Melalui standarisasi metodologi yang dilakukan, maka hasil uji MIC dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan menjadi rujukan penting bagi pengembangan industri farmasi berbasis herbal. Dengan demikian, penentuan MIC bukan sekadar

prosedur laboratorium biasa, melainkan instrumen penentu dalam pencarian solusi alternatif mengatasi resistensi antimikroba global.

C. Penentuan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)

Penentuan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) atau Kadar Bunuh Minimum (KBM) merupakan tahapan final yang sangat penting dalam rangkaian evaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) secara *in vitro*. Pengujian tersebut berfungsi untuk melengkapi data kuantitatif yang diperoleh dari uji MIC. Nilai MIC hanya mengukur batas konsentrasi terendah yang diperlukan untuk menahan atau menghambat proliferasi sel bakteri tanpa benar-benar membunuhnya. Sebaliknya, uji MBC dirancang secara spesifik untuk menentukan konsentrasi absolut terendah dari ekstrak yang mampu bertindak sebagai agen bakterisidal yang mematikan populasi bakteri target secara total. Kepastian terkait sifat letal tersebut menjadi parameter farmakologis yang fundamental dalam menentukan apakah ekstrak bahan alam layak dikembangkan sebagai agen terapeutik infeksi akut.

Prinsip dasar pengujian MBC bersandar pada teknik pembiakan kembali (*sub-culturing*) suspensi bakteri dari sumuran-sumuran jernih hasil uji MIC di *microplate* ke atas permukaan media agar padat yang baru. Pengerjaan tersebut dilakukan dengan mengambil sejumlah volume tertentu cairan dari setiap sumuran pelat mikro uji MIC yang tidak memperlihatkan tanda-tanda pertumbuhan bakteri secara visual. Cairan inokulum tersebut kemudian digoreskan atau diratakan secara aseptik menggunakan jarum ose di atas media nutrient agar atau *Mueller-Hinton Agar* (MHA) steril. Media agar padat baru tersebut bertindak sebagai lingkungan pertumbuhan bebas zat aktif, di mana sel bakteri yang awalnya terhambat dapat kembali bereplikasi jika mereka hanya berada dalam fase dorman atau bakteristatik. Cawan-cawan petri yang telah diinokulasikan kembali kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu optimal 37 derajat Celsius selama 24 jam.

52

2

Proses inkubasi ulang bertujuan untuk memberikan waktu dan nutrisi yang cukup bagi sel mikroba yang tersisa untuk memulihkan diri dari tekanan biokimia senyawa bioaktif bawang putih. Setelah periode inkubasi berakhir, evaluasi dilakukan dengan mengamati dan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada permukaan media agar padat tersebut. Konsentrasi ekstrak etanol bawang putih pada sumuran awal yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri sama sekali pada media agar padat ditetapkan sebagai nilai MBC. Secara internasional, standardisasi nilai MBC juga dapat didefinisikan sebagai konsentrasi terendah yang mampu membunuh minimal 99,9 persen dari inokulum bakteri awal.

Kemampuan ekstrak etanol bawang putih dalam mencapai efek bakterisidal dipengaruhi oleh kekuatan penetrasi senyawa organosulfur, terutama alisin (allicin). Alisin merupakan molekul aktif utama yang memiliki afinitas luar biasa terhadap gugus tiol atau sulfhidril yang terdapat pada protein dan sistem enzim esensial bakteri. Ketika konsentrasi ekstrak yang diaplikasikan mencapai ambang batas MBC, alisin tidak hanya menghambat sintesis RNA atau menghalangi pembelahan sel. Molekul organosulfur mampu berikatan secara kovalen (*Irreversibel*) dengan enzim-enzim metabolisme di dalam nukleus seperti tiiodoksin reduktase dan asetat kinase. Kerusakan enzimatik yang masif dan permanen memicu kegagalan metabolisme sistemik yang berujung pada kematian sel bakteri secara instan tanpa peluang pemulihan jaringan seluler.

Selain kerusakan enzimatik intraseluler, efek letal ekstrak etanol bawang putih juga melibatkan destruksi fisik secara langsung pada struktur selubung luar bakteri patogen. Senyawa fitokimia lain seperti saponin dan flavonoid yang larut sempurna dalam pelarut etanol ikut bekerja secara sinergis memperkuat aksi alisin pada konsentrasi MBC. Saponin bertindak sebagai agen aktif permukaan yang mengikat molekul sterol atau lipid pada membran sitoplasma bakteri, sehingga

menciptakan pori-pori abnormal yang merusak permeabilitas membran. Kebocoran membran sitoplasma dapat mengakibatkan ion-ion esensial keluar sel seperti kalium dan fosfat serta makromolekul penting dari dalam sitoplasma ke lingkungan luar. Kehilangan komponen seluler vital secara mendadak dapat menghilangkan gradien potensial elektrokimia membran dan memicu lisis seluler yang fatal bagi bakteri.

Perbandingan antara nilai MIC dan nilai MBC dari ekstrak etanol bawang putih memberikan informasi yang sangat berharga mengenai sifat dasar efikasi antimikroba tersebut.

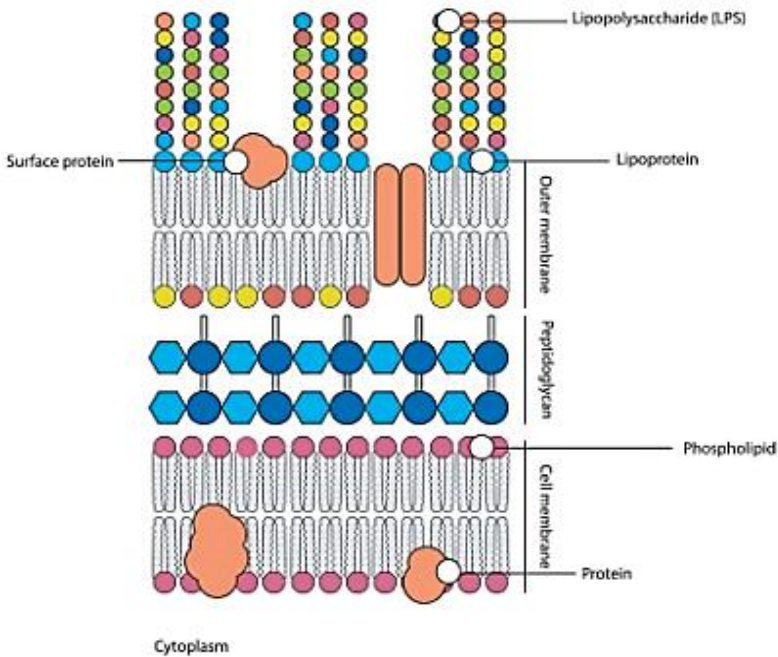
Apabila nilai MBC setara atau tidak lebih dari empat kali lipat dari nilai MIC, maka ekstrak bawang putih tersebut dikategorikan memiliki aktivitas bakterisidal yang kuat. Namun, jika rasio antara MBC dan MIC bernilai lebih besar dari empat, maka sifat kerja ekstrak tersebut cenderung bersifat bakteristatik atau hanya menghambat pertumbuhan. Pada sebagian besar riset biomedis terstandardisasi, ekstrak etanol bawang putih secara konsisten menunjukkan rasio indeks bakterisidal yang sempit terhadap patogen utama. Indikator kuantitatif tersebut menunjukkan bahwa komponen aktif umbi bawang putih murni bersifat membunuh, bukan sekadar menginaktivasi koloni mikroba menjadi bentuk dorman. Sensitivitas letal dan penentuan nilai MBC juga menunjukkan variasi yang logis dan konsisten ketika diuji terhadap kelompok bakteri yang berbeda struktur dinding selnya. Bakteri Gram-positif patogen seperti *Streptococcus mutans* memerlukan konsentrasi MBC yang relatif lebih rendah untuk mencapai eliminasi total populasinya di cawan petri. Hal tersebut terjadi karena struktur dinding sel bakteri Gram positif hanya dilapisi peptidoglikan berpori longgar, sehingga mempermudah proses difusi seluruh molekul organosulfur bawang putih menuju membran plasma target. Sebaliknya, strain Gram-negatif multiresisten seperti *Klebsiella pneumoniae* membutuhkan paparan konsentrasi MBC yang jauh lebih tinggi dan padat. Ekskresi matriks polisakarida ekstraseluler pada beberapa varian Gram-negatif mampu menjebak sebagian molekul aktif,

sehingga memerlukan dosis intervensi yang lebih pekat untuk membunuh seluruh populasi sel. Keakuratan penentuan nilai MBC di dalam laboratorium riset sangat bergantung pada ketepatan teknik sampling saat memindahkan cairan dari sumuran MIC. Cairan di dalam sumuran pelat mikro harus homogen secara sempurna melalui proses pengocokkan atau pemipetan berulang sebelum dipindahkan ke media agar padat baru. Jika pengendapan bakteri terjadi di dasar sumuran dan tidak terambil oleh mikropipet, maka cawan agar baru akan tampak jernih secara semu. Kesalahan teknis tersebut dapat menghasilkan nilai MBC yang lebih rendah dari kadar yang sebenarnya, sehingga mendistorsi validitas data yang diperoleh. Standardisasi penggunaan volume cairan yang dipindahkan, umumnya berkisar antara 10 hingga 100 mikroliter, harus dijaga konsistensinya di setiap perlakuan konsentrasi. Penggunaan kontrol positif antibiotik komersial yang bersifat bakterisidal, seperti antibiotik golongan aminoglikosida atau beta-laktam, menjadi instrumen validasi metodologis yang tidak boleh diabaikan. Kontrol pembanding tersebut sebagai standar dasar objektif mengenai kecepatan dan kapasitas bunuh dari agen antimikroba standar pada galur bakteri yang sama. Data komparatif tersebut membantu para ilmuwan dalam mengukur sejauh mana efektivitas letal dari ekstrak etanol bahan alam jika disandingkan dengan obat-obatan klinis modern. Melalui pemetaan ilmiah yang terukur, posisi strategis bawang putih sebagai kandidat antibiotik herbal alternatif dapat dijustifikasi secara kuat. Hal tersebut sangat penting untuk meyakinkan komunitas medis konvensional terhadap prospek pengembangan fitofarmaka nusantara. Secara komprehensif, hasil penentuan *Minimum Bactericidal Concentration* menutup rangkaian pengujian sensitivitas dasar antibakteri ekstrak etanol bawang putih secara meyakinkan. Informasi dosis letal terendah mampu menjadi data utama yang melandasi perhitungan konversi dosis aman untuk tahapan uji toksisitas prabersalin berikutnya secara *in vivo*. Pemahaman sistematis mengenai kapasitas bunuh ekstrak alam dapat berkontribusi nyata dalam

menjawab tantangan global terkait kebuntuan inovasi obat infeksi sintetik. Berdasarkan penelitian yang dilakukan diketahui bahwa bawang putih bukan sekadar obat tradisional tanpa dasar. Bawang putih terbukti merupakan agen biomedis terukur yang memiliki efikasi fatal yang presisi dalam menghancurkan koloni bakteri patogen berbahaya.

D. Spektrum Aktivitas terhadap Bakteri Gram-Negatif

Evaluasi mengenai spektrum aktivitas ekstrak etanol bawang putih terhadap kelompok bakteri Gram-negatif merupakan bagian krusial dalam memetakan efikasi antimikroba alaminya. Karakterisasi penting dalam biokomedi karena bakteri Gram-negatif dikenal sebagai agen penyebab berbagai infeksi sistemik, infeksi saluran kemih, hingga bakteremia yang memiliki tingkat mortalitas tinggi. Dalam menghadapi patogen jenis tersebut adalah tantangan terbesar bagi dunia farmasi karena tingkat resistensi bawaan kelompok bakteri Gram negatif jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri Gram-positif. Melalui pemahaman yang mendalam mengenai spektrum aktivitas bakteri tersebut, para peneliti dapat mengidentifikasi batas efektivitas senyawa fitokimia bawang putih terhadap berbagai spesies patogen Gram-negatif. Rentang target pengujian mencakup bakteri enterik seperti *E. coli* dan *S. typhimurium* hingga patogen nosokomial non-fermenter seperti *P. aeruginosa*.



Gambar 7.1 Dinding Sel Bakteri Gram Negatif

Tingkat resistensi alami bakteri Gram-negatif yang tinggi terhadap agen antimikroba sangat dipengaruhi oleh struktur khas dari selubung sel bakteri tersebut yang sangat kompleks. Berbeda dari bakteri Gram-positif yang hanya memiliki lapisan peptidoglikan tebal, bakteri Gram-negatif dilapisi oleh membran luar (*outer membrane*) ekstra di luar lapisan peptidoglikan yang tipis (Gambar 7.1). Membran luar tersebut memiliki komposisi asimetris yang kaya akan lipopolisakarida (LPS) pada lapisan luar serta fosfolipid pada lapisan dalamnya. Keberadaan LPS dapat menciptakan sebuah hambatan hidrofobik yang sangat kuat dan selektif terhadap masuknya molekul-molekul asing dari lingkungan luar sel. Karakteristik struktural membran sel tersebut yang sering menyebabkan zona hambat ekstrak tumbuhan pada bakteri Gram-negatif tampak lebih kecil dalam pengujian makroskopis.

Meskipun terdapat benteng pertahanan yang sangat kokoh, ekstrak etanol bawang putih terbukti tetap memiliki spektrum aktivitas yang signifikan terhadap kelompok patogen bakteri Gram negatif. Keberhasilan penetrasi dimungkinkan karena senyawa organosulfur aktif di dalam bawang putih, terutama alisin, memiliki ukuran molekul yang kecil dan tidak bermuatan listrik. Sifat fisikokimia alisin tersebut memungkinkannya untuk melewati saluran porin hidrofilik yang tersebar pada membran luar bakteri Gram-negatif dengan cara difusi pasif. Setelah berhasil melewati porin, alisin dapat dengan bebas melintasi ruang periplasma untuk mencapai target biologis utamanya pada membran sitoplasma dan aparatus replikasi intraseluler bakteri. Kemampuan menembus barikade protektif tersebut menempatkan bawang putih sebagai kandidat potensial untuk mengatasi infeksi akibat bakteri Gram-negatif.

18

Aktivitas destruktif ekstrak etanol bawang putih terhadap bakteri Gram-negatif bekerja melalui beberapa mekanisme biokimia simultan yang saling mendukung untuk melumpuhkan sel patogen. Saat berada di dalam sel, alisin langsung menyerang gugus sulfhidril atau tiol dari protein seluler bakteri melalui reaksi pertukaran tiol-disulfida yang cepat. Reaksi kimia tersebut dapat menyebabkan inaktivasi secara ireversibel pada enzim-enzim metabolisme perantara yang sangat vital bagi kelangsungan hidup bakteri, seperti RNA polimerase dan alkohol dehidrogenase. Tanpa aktivitas enzim polimerase maka proses transkripsi materi genetik untuk sintesis protein struktural maupun fungsional bakteri dapat terhenti total. Kegagalan sintesis protein mengakibatkan pertumbuhan sel menjadi stagnan dan menginduksi fase kematian cepat pada koloni mikroba. Selain menginaktivasi enzim intraseluler, komponen bioaktif bawang putih seperti flavonoid dan tanin yang terlarut dalam ekstrak etanol juga ikut menyerang struktur fisik membran. Kombinasi kandungan fitokimia ekstrak bawang putih tersebut dapat mengganggu stabilitas ikatan hidrofobik antara molekul lipopolisakarida pada membran luar, sehingga memicu disorganisasi struktural

91

pada selubung luar bakteri Gram-negatif. Kerusakan pada membran luar dapat meningkatkan permeabilitas sel secara drastis, yang menyebabkan senyawa-senyawa toksik eksternal masuk dengan lebih mudah ke dalam sel. Pada saat yang sama, membran sitoplasma bagian dalam juga mengalami depolarisasi elektrik akibat kebocoran ion hidrogen dan kalium yang keluar secara tidak terkendali. Kehilangan gradien elektrokimia tersebut secara instan memutus rantai transpor elektron bakteri, sehingga pasokan energi berupa ATP menurun tajam.

8

Berdasarkan spektrum targetnya, ekstrak etanol bawang putih menunjukkan tingkat efektivitas yang bervariasi antar-spesies Gram-negatif, *E. coli* umumnya memperlihatkan kerentanan yang lebih tinggi. Spesies *E. coli* yang menjadi penyebab utama infeksi diare dan infeksi saluran kemih merespons paparan ekstrak dengan penurunan densitas optik sel yang konstan. Senyawa alisin mampu menghentikan aktivitas enzim asetil-KoA sintetase pada *E. coli*, yang merupakan enzim kunci dalam jalur biosintesis asam lemak membran sel. Hambatan pada jalur metabolisme lipid dapat menyebabkan bakteri tidak mampu memperbaiki kerusakan membran sel yang terjadi akibat gesekan mekanis atau tekanan osmotik lingkungan. Akibatnya, integritas struktur membran sel *E. coli* hancur dengan cepat, yang ditunjukkan melalui pembentukan zona hambat yang jelas di laboratorium.

Spektrum aktivitas bawang putih menghadapi tantangan teknis yang lebih besar ketika diuji terhadap patogen oportunistik tingkat tinggi seperti *P. aeruginosa*. Bakteri tersebut secara klinis terkenal memiliki resistensi tingkat tinggi karena dilengkapi dengan sistem pompa efluks (*efflux pump*) multiobat yang sangat aktif. Pompa efluks yang tertanam pada membran sel bakteri tersebut bekerja secara aktif memompa keluar molekul obat atau zat toksik alamiah yang berhasil masuk ke dalam sitoplasma. Kondisi tersebut menuntut konsentrasi ekstrak etanol bawang putih yang jauh lebih pekat untuk menjenuhkan kinerja sistem pompa efluks tersebut di dalam sumuran uji *microplate*. Penelitian menunjukkan bahwa ketika

konsentrasi ekstrak ditingkatkan melewati ambang batas tertentu, alisin mampu melumpuhkan ekspresi gen penyusun pompa efluks sehingga bakteri kehilangan pertahanan utamanya.

2 Komponen bioaktif bawang putih juga memiliki kemampuan unik dalam mengintervensi sistem komunikasi antar-sel bakteri Gram-negatif yang dikenal sebagai *quorum sensing*. Banyak bakteri Gram-negatif menggunakan *quorum sensing* untuk mengoordinasikan ekspresi gen virulensi secara massal, termasuk dalam proses pembentukan lapisan pelindung biofilm yang tebal. Ekstrak etanol bawang putih mengandung senyawa organosulfur sekunder seperti ajoene yang terbukti bertindak sebagai antagonis kompetitif terhadap molekul sinyal *quorum sensing*. Dengan memutus jalur komunikasi tersebut, ekstrak bawang putih mencegah bakteri untuk bersatu membentuk biofilm yang resisten terhadap serangan sistem imun maupun antibiotik konvensional. Kemampuan melemahkan virulensi tanpa langsung membunuh bakteri Gram negatif menjadi strategi alternatif yang sangat baik untuk meminimalkan risiko tekanan selektif yang memicu resistensi baru.

64 Standardisasi media dan kondisi pengujian spektrum Gram-negatif memerlukan ketelitian tinggi guna memastikan akurasi data yang dihasilkan di cawan petri. Penggunaan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) sangat direkomendasikan karena memiliki kandungan pati yang mampu menyerap toksin bakteri yang dapat mengganggu difusi zat aktif. Selain itu, tingkat keasaman atau pH media harus dipertahankan pada kisaran netral yaitu 7,2 hingga 7,4 selama proses preparasi dilakukan. Kondisi pH lingkungan yang terlalu asam atau terlalu basa dapat mempercepat degradasi molekul alisin yang bersifat tidak stabil menjadi senyawa sulfur lain yang kurang aktif. Penjagaan stabilitas pH tersebut menjamin bahwa spektrum aktivitas antimikroba yang teramati benar-benar mencerminkan potensi asli dari sediaan ekstrak etanol yang diuji.

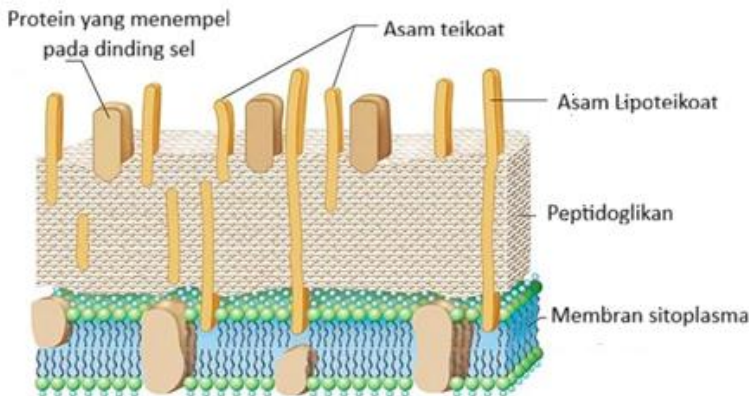
Pemetaan spektrum aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram-negatif dapat memberikan kontribusi ilmiah yang sangat berharga bagi pengembangan ilmu farmasi herbal berstandar. Data kuantitatif mengenai efikasi ekstrak terhadap berbagai patogen enterik dan nosokomial membuktikan validitas bawang putih sebagai agen antibakteri spektrum luas. Pemahaman logis mengenai interaksi molekuler alisin dengan sistem pertahanan membran luar Gram-negatif membuka peluang formulasi kombinasi sinergis dengan antibiotik komersial. Penelitian sistematis dan taat asas membuktikan bahwa aplikasi biomedis bawang putih memiliki prospek masa depan yang cerah, sehingga diharapkan dapat terus dikembangkan menuju tahapan uji klinis sebagai alternatif terapi infeksi bakteri Gram-negatif yang aman dan efektif.

E. Spektrum Aktivitas terhadap Bakteri Gram-Positif

Karakterisasi mengenai spektrum aktivitas ekstrak etanol bawang putih terhadap kelompok bakteri Gram-positif merupakan pilar penting dalam membuktikan efikasi biokimia tanaman obat tersebut secara menyeluruh. Di ranah klinis, bakteri Gram-positif mendominasi berbagai kasus infeksi supuratif pada jaringan lunak, kulit, saluran pernapasan, hingga infeksi nosokomial berat yang mengancam keselamatan jiwa pasien. Beberapa patogen utama yang sering menjadi subjek pengujian komparatif meliputi spesies *S. aureus*, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), dan *B. subtilis*. Evaluasi berskala laboratorium dapat memberikan rekam data ilmiah mengenai sejauh mana komponen metabolit sekunder bawang putih mampu berinteraksi dan merusak sel mikroba yang memiliki karakteristik dinding sel tebal. Hasil uji sensitivitas secara konsisten menunjukkan bahwa kelompok bakteri Gram-positif memiliki tingkat kerentanan yang sangat tinggi terhadap paparan ekstrak bawang putih. Tingkat sensitivitas bakteri Gram-positif terhadap ekstrak etanol bawang putih tergantung pada struktur dinding sel bakteri tersebut yang cenderung lebih sederhana dibandingkan bakteri Gram-negatif (Gambar 7.2).

26

Dinding sel bakteri Gram-positif didominasi oleh lapisan peptidoglikan tunggal yang tebal dan kaku, dengan kandungan asam teikoat yang tertanam di antaranya. Lapisan peptidoglikan berbentuk jala polimer berpori longgar yang tidak memiliki membran luar lipid ataupun barier lipopolisakarida pelindung. Ketiadaan barikade hidrofobik eksternal tersebut membuat dinding sel Gram-positif bersifat sangat permeabel terhadap berbagai senyawa organik dari luar. Kondisi fisis tersebut memberikan keuntungan mekanis yang besar bagi penetrasi cepat seluruh molekul bioaktif yang tersimpan di dalam sediaan ekstrak bawang putih.



Gambar 7.2 Dinding Sel Bakteri Gram Positif

Senyawa organosulfur volatil utama, yaitu alisin (*allicin*), dapat dengan sangat mudah melintasi pori-pori jala peptidoglikan bakteri Gram-positif tanpa mengalami hambatan retensi yang berarti. Sifat alisin yang cenderung lipofilik memungkinkannya untuk segera berinteraksi secara langsung dengan lapisan lipid bilayer pada membran sitoplasma bagian dalam. Saat berhasil mencapai membran sitoplasma, alisin bekerja dengan mengganggu fluiditas fasa lipid dan memicu robeknya kompartemen seluler mikroba. Kerusakan pada membran sitoplasma tersebut menghilangkan fungsi permeabilitas selektif sel bakteri Gram-positif, sehingga terjadi kebocoran materi genetik dan elektrolit internal. Lisis seluler yang masif tersebut menjadi alasan ilmiah mengapa diameter

zona hambat bawang putih pada kelompok Gram-positif umumnya terbentuk secara luas dan jelas. Selain alisin, kelompok senyawa non-sulfur polifenolik seperti flavonoid dan fenolik utama yang ditarik oleh pelarut etanol juga berkontribusi aktif dalam spektrum hambatan tersebut. Senyawa flavonoid dalam ekstrak bawang putih bertindak sebagai agen pengoverlay ekstraseluler yang mengikat protein permukaan bakteri Gram-positif. Flavonoid membentuk kompleks kovalen yang stabil dengan protein dinding sel, sehingga menginduksi denaturasi struktural pada protein penentu bentuk seluler mikroba tersebut. Dampak sekunder dari ikatan polifenol adalah penghambatan pada pembentukan dinding sel baru saat bakteri mencoba melakukan pembelahan biner. Kegagalan regenerasi peptidoglikan dapat melemahkan kekuatan mekanis bakteri, sehingga menjadikannya rentan pecah akibat tekanan osmotik internal medium yang tinggi. Berdasarkan spektrum daya hambat yang dihasilkan, spesies *S. aureus* merupakan salah satu patogen Gram-positif yang paling peka terhadap intervensi ekstrak etanol bawang putih. Varian *S. aureus* yang sering kali memicu infeksi resisten obat, seperti galur MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*), yang tetap menunjukkan sensitivitas yang kuat saat terpapar sediaan fitofarmaka bawang putih. Alisin di dalam ekstrak menginaktivasi enzim-enzim seluler yang mengandung gugus fungsional tiol ($-SH$) melalui reaksi tiolasi yang cepat. Enzim-enzim utama seperti dehidrogenase dan kinase pada *S. aureus* kehilangan kapasitas katalitiknya secara permanen akibat oksidasi gugus tiol tersebut. Kegagalan sistem enzim perantara tersebut menghentikan jalur respirasi dan memutus rantai pasokan energi metabolisme bakteri secara total. Ekstrak etanol bawang putih juga menunjukkan daya hambat yang sangat efektif saat diuji terhadap bakteri Gram-positif spesifik rongga mulut, yaitu *Streptococcus mutans*. Bakteri *S. mutans* dikenal memiliki kemampuan virulensi tinggi dalam memproduksi asam dan membentuk plak gigi melalui pemanfaatan medium sukrosa. Komponen aktif bawang putih bekerja dengan cara

menghambat aktivitas enzim glukosiltransferase yang diekskresikan oleh bakteri tersebut. Tanpa enzim glukosiltransferase yang aktif, *S. mutans* dapat kehilangan kemampuan untuk mensintesis polimer glukon ekstraseluler yang lengket. Akibat, bakteri tidak dapat menempel dan gagal membentuk koloni biofilm protektif, sehingga spektrum virulensinya dapat ditekan secara signifikan sejak fase awal. Pada kelompok bakteri Gram-positif pembentuk spora seperti *B. subtilis*, ekstrak etanol bawang putih memperlihatkan spektrum hambat yang dinamis pada fase vegetatif. Sel vegetatif *B. subtilis* merespons paparan organosulfur bawang putih dengan menunjukkan tanda-tanda kerusakan morfologi yang nyata di bawah pengamatan mikroskopis. Senyawa aktif bawang putih mengintervensi integritas aparatus pembelahan sel, khususnya fasa segregasi kromosom selama replikasi DNA berlangsung. Hambatan pembelahan tersebut memaksa sel vegetatif masuk ke dalam jalur kematian sel sebelum dapat menginisiasi proses sporulasi pelindung. Kapasitas regulasi tersebut membuktikan bahwa daya hambat bawang putih melalui kontrol siklus hidup patogen Gram-positif secara sistematis. Sinergisme biokimia berlapis antara komponen sulfur dan non-sulfur bawang putih menjadi alasan utama mengapa bakteri Gram-positif mengalami kesulitan besar untuk membangun mutasi resistensi. Berbeda dengan antibiotik komersial tunggal yang hanya menyerang satu sisi target spesifik, ekstrak total bawang putih secara molekuler menargetkan multi-sasaran secara simultan. Bakteri Gram-positif tidak dapat memperbaiki kerusakan struktural membran yang terjadi bersamaan dengan inaktivasi enzim metabolisme utama di sitoplasma. Karakteristik multi-target tersebut memutus kemampuan adaptasi genetik bakteri untuk memproduksi protein pelindung baru yang efektif. Keunggulan multi-target tersebut yang menempatkan bawang putih sebagai agen antibakteri herba yang sangat andal dan berkesinambungan. Standardisasi metodologi pengujian spektrum Gram-positif harus mempertahankan konsistensi

parameter fisis dalam pengujian. Penggunaan media agar yang tepat dan segar dengan tingkat ketebalan rata menjadi kunci utama agar laju difusi zat aktif berjalan linier tanpa deviasi mekanis. Proses inkubasi harus dipastikan berjalan pada kondisi aerobik yang stabil dengan suhu terkontrol sebesar 37° Celsius, sesuai dengan standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Penyimpangan suhu inkubasi dapat menggeser stabilitas kimiawi alisin dan mengubah viskositas medium agar, yang secara langsung dapat merusak validitas diameter zona hambat yang terbaca.

Secara keseluruhan, analisis komprehensif terhadap spektrum aktivitas bakteri Gram-positif memberikan bukti ilmiah yang kuat terkait potensi biomedis ekstrak bawang putih. Nilai zona hambat yang signifikan, nilai MIC dan MBC yang konsisten rendah menunjukkan kelayakan ekstrak etanol bawang putih untuk dikembangkan sebagai sediaan fitofarmaka. Temuan tersebut membuka peluang pemanfaatan lebih lanjut ekstrak bawang putih terstandardisasi sebagai terapi komplementer mendampingi pengobatan konvensional pada infeksi kulit dan mukosa. Sehingga penelitian berbasis bukti sangat dibutuhkan untuk menjelaskan mekanisme antimikroba alami bawang putih guna mendukung pengembangan agen terapeutik masa depan.

BAB 8

MEKANISME BIOKIMIA DAN SELULER ANTIBAKTERI

A. Destruksi Integritas Dinding Sel dan Membran Sitoplasma Bacteria

Destruksi integritas dinding sel dan membran sitoplasma merupakan salah satu jalur utama mekanisme letal yang dilancarkan oleh senyawa bioaktif ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) terhadap sel bakteri. Memahami interaksi pada level seluler dan molekuler sangat penting untuk mengungkap alasan di balik efikasi kuat dari sediaan fitofarmaka ekstrak etanol bawang putih. Dinding sel dan membran sitoplasma merupakan dua struktur protektif vital yang menjaga homeostasis, memberikan bentuk mekanis, serta mengatur keluar masuknya ion maupun nutrisi untuk kelangsungan hidup bakteri. Ketika kedua lapisan pertahanan tersebut mengalami kerusakan fisik atau gangguan biokimia yang masif, sel bakteri dapat kehilangan kemampuan untuk mempertahankan kondisi internal yang stabil. Akibatnya, tekanan osmotik internal yang tidak terkendali akan memicu lisis seluler secara mendadak, menandai kematian permanen dari koloni patogen tersebut.

Secara spesifik, penargetan komponen dinding sel bakteri Gram-positif dan Gram-negatif oleh ekstrak etanol bawang putih melibatkan penetrasi molekuler yang terencana dengan baik. Lapisan peptidoglikan yang tebal pada Gram-positif maupun membran luar yang kaya akan lipopolisakarida pada Gram-negatif menjadi sasaran utama bagi senyawa fitokimia

37

non-sulfur seperti flavonoid dan tanin. Flavonoid memiliki kemampuan alami untuk membentuk ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein struktural yang tertanam pada dinding sel bakteri. Interaksi kovalen dan hidrofobik dapat menginduksi/memicu denaturasi protein permukaan membran, sehingga merusak susunan/struktur anyaman polimer peptidoglikan. Tanpa ada kestabilan anyaman peptidoglikan yang utuh, kekuatan mekanis seluler bakteri untuk menahan perbedaan tekanan hidrostatik lingkungan luar akan menurun drastis.

Kerusakan yang terjadi pada dinding sel bakteri kemudian membuka jalan bagi senyawa organosulfur volatil utama, yaitu alisin (allicin), untuk menembus masuk dan menyerang target berikutnya, yaitu membran sitoplasma. Alisin memiliki sifat kimiawi unik berupa ukuran molekul yang sangat kecil, tidak bermuatan listrik, dan memiliki karakteristik lipofilik yang cukup tinggi. Karakteristik fisikokimia tersebut memungkinkan alisin dengan sangat cepat berdifusi melintasi matriks lipid bilayer yang menyusun struktur inti membran sitoplasma bakteri. Saat alisin terlarut di dalam fasa lipid membran, molekul tersebut mulai mengganggu kerapatan ikatan hidrofobik antar-ekor asam lemak fosfolipid. Disorganisasi (kerusakan) spasial yang terjadi menyebabkan fasa cair-kristal membran sitoplasma yang awalnya teratur berubah menjadi acak dan tidak stabil. Dampak langsung dari kerusakan fasa lipid membran sitoplasma tersebut adalah terjadinya perubahan fluiditas dan peningkatan permeabilitas membran secara abnormal. Membran sitoplasma yang normal bertindak sebagai penghalang semipermeabel yang sangat selektif untuk menjaga perbedaan konsentrasi ion antara kompartemen intraseluler dan ekstraseluler. Ketika alisin dan senyawa sulfur sekunder seperti ajoene merusak susunan fosfolipid, pori-pori mikro non-spesifik akan terbentuk di sepanjang permukaan membran sel. Pori-pori abnormal tersebut menghancurkan fungsi kontrol retensi membran, sehingga molekul-molekul penting di dalam sitoplasma dapat keluar

secara bebas. Akibat awal kebocoran tersebut adalah pelepasan cadangan ion-ion berukuran kecil yang bersifat vital bagi sel, terutama ion kalium dan ion fosfat. Kehilangan ion kalium (K^+) secara masif dari dalam sitoplasma memicu konsekuensi biokimia yang sangat fatal bagi metabolisme internal bakteri. Ion kalium merupakan kofaktor esensial yang mutlak diperlukan oleh berbagai jenis enzim intraseluler, termasuk enzim-enzim yang mengatalisis jalur glikolisis dan sintesis protein. Ketika konsentrasi kalium intraseluler menurun tajam melewati ambang batas fisiologisnya, maka aktivitas enzimatik dapat terhenti seketika. Selain itu, aliran keluar ion positif yang tidak terkendali mengganggu keseimbangan muatan listrik yang melintasi membran sitoplasma. Fenomena tersebut menyebabkan terjadi depolarisasi membran secara instan, potensial membran seluler bakteri yang terjadi sangat penting untuk konversi energi. Kehilangan potensial membran secara otomatis menginaktifkan sistem *Proton Motive Force* (PMF) yang menjadi motor penggerak utama bagi sintesis energi seluler bakteri. Sistem PMF bersandar pada pemeliharaan gradien konsentrasi ion hidrogen yang ketat di sepanjang ruang antar-membran untuk memutar pompa enzim ATP sintase. Ketika permeabilitas membran sitoplasma telah dirusak oleh komponen aktif ekstrak etanol bawang putih, ion hidrogen dapat mengalir kembali ke dalam sitoplasma melalui pori-pori membran sel yang rusak tersebut tanpa melewati jalur ATP sintase. Kebocoran proton memutus kopling rantai transpor elektron dengan proses fosforilasi oksidatif, sehingga produksi molekul energi ATP mengalami penurunan drastis hingga mencapai titik nol. Tanpa ada pasokan ATP yang memadai, sel bakteri tidak memiliki cukup energi untuk menjalankan aktivitas pemeliharaan basal maupun transpor aktif nutrisi.

Secara bersamaan, kerusakan fisik pada struktur membran sitoplasma juga mengganggu fungsi protein transpor integral seperti permease dan sistem efflux pump. Protein transpor yang tertanam di dalam lipid bilayer memerlukan lingkungan membran yang stabil dan energi ATP yang konstan

untuk mempertahankan konformasi fungsionalnya. Ketika fasa lipid di sekeliling protein tersebut terdistorsi oleh alisin, struktur tiga dimensi dari protein transpor dapat mengalami salah lipatan (*misfolding*). Malfungsi pada sistem transpor sel menghentikan penyerapan molekul nutrisi esensial seperti asam amino dan glukosa dari medium luar ke dalam sel bakteri. Stravasi (kekurangan) nutrisi yang terjadi secara mendadak dapat mempercepat laju penurunan viabilitas sel dan memaksa bakteri masuk ke dalam fase autolisis dini. Selain kebocoran molekul kecil, pada tingkat kerusakan membran yang lebih parah, makromolekul intraseluler yang berukuran besar seperti asam nukleat (DNA dan RNA) serta protein fungsional ikut keluar meninggalkan sel. Cairan sitoplasma yang kaya protein struktural dan materi genetik mampu merembes keluar melalui membran sitoplasma yang rusak. Fenomena degradasi fisik tersebut dapat diketahui melalui pengukuran peningkatan nilai absorbansi cairan supernatan pada panjang gelombang 260 nanometer dan 280 nanometer. Peningkatan nilai absorbansi yang konstan pada panjang gelombang tersebut membuktikan bahwa komponen inti penyusun kehidupan sel mikroba telah berhamburan keluar akibat rusaknya integritas fisik pelindung sel. Keunggulan dari ekstrak etanol bawang putih terletak pada kemampuan aksi multi-targetnya yang menyerang dinding sel dan membran sitoplasma secara simultan dan sinergis. Antibiotik sintetik konvensional umumnya hanya menasar satu target spesifik, seperti penisilin yang hanya menghambat sintesis peptidoglikan dinding sel tanpa merusak membran secara langsung. Keterbatasan antibiotik tunggal tersebut memberikan celah bagi bakteri untuk mengembangkan mutasi genetik protektif guna menghasilkan resistensi obat. Sebaliknya, campuran kompleks senyawa organosulfur dan polifenol di dalam ekstrak bawang putih menghancurkan struktur dan fungsional selubung sel secara bersamaan dari berbagai sudut biokimia. Skema serangan multipel tersebut memutus kemampuan adaptasi genetik bakteri, sehingga patogen sangat sulit untuk membangun mekanisme pertahanan baru. Secara

komprehensif, mekanisme biokimia dan seluler antibakteri melalui jalur destruksi integritas dinding sel dan membran sitoplasma tersebut telah menunjukkan argumen ilmiah yang sangat kuat. Kebocoran ion, kehilangan potensial membran, hingga keluarnya makromolekul intraseluler menegaskan status bawang putih sebagai agen bakterisidal yang sangat efektif. Pemahaman logis pada level molekuler dapat memperkaya khazanah biomedis dan memberikan justifikasi kuat bagi pengembangan formulasi sediaan obat herbal antimikroba di masa depan. Melalui standardisasi penelitian yang taat asas, mekanisme kerusakan seluler tersebut dapat menjadi referensi penting dalam upaya global menemukan solusi alternatif guna mengatasi krisis resistensi antibiotik global yang kian mengkhawatirkan.

B. Inhibisi Enzim Sulfhidril melalui Reaksi Tiolasi oleh Alisin

Inhibisi enzim sulfhidril melalui reaksi tiolasi merupakan mekanisme biokimia inti yang sangat spesifik dan mematikan dari senyawa alisin (allicin) terhadap metabolisme seluler bakteri. Alisin yang merupakan senyawa organosulfur dominan dalam ekstrak etanol bawang putih dikenal memiliki reaktivitas kimiawi yang sangat tinggi terhadap gugus fungsi tertentu pada protein mikroba. Di dalam sitoplasma sel patogen, terdapat ribuan jenis protein fungsional dan enzim esensial yang mengendalikan seluruh jalur reaksi biokimia untuk mempertahankan kehidupan mikroba. Banyak dari enzim vital tersebut bergantung penuh pada keberadaan gugus sulfhidril bebas ($-SH$) atau tiol yang terletak pada sisi aktif enzim untuk menjalankan fungsi katalitik. Interaksi langsung antara molekul alisin dengan gugus sulfhidril tersebut menjadi target intervensi molekuler yang merusak sistem biokimia internal bakteri secara sistemik dan irreversibel.

Secara kimiawi, alisin atau dialil tiosulfonat memiliki struktur molekul yang tidak stabil dengan ikatan sulfur-oksigen yang sangat reaktif. Karakteristik elektrofilik dari atom sulfur pada molekul alisin menjadikannya sangat mudah mengalami

reaksi pertukaran tiol-disulfida saat bersentuhan dengan gugus tiol bebas. Ketika alisin berhasil menembus selubung sel bakteri dan masuk ke dalam lingkungan sitoplasma, alisin segera menyerang residu asam amino sistein yang memiliki gugus sulfhidril. Reaksi kimia yang terjadi adalah penyerangan nukleofil oleh gugus tiol enzim bakteri terhadap ikatan tiosulfinat alisin. Proses reaksi tersebut menghasilkan pembentukan ikatan disulfida campuran yang baru antara molekul asam amino sistein bakteri dengan gugus aliltio dari alisin, yang secara ilmiah diistilahkan sebagai reaksi tiolasi. Dampak langsung dari reaksi tiolasi pada residu sistein pada sisi aktif enzim adalah kehilangan kemampuan enzim dalam mengikat substrat secara instan. Gugus sulfhidril pada sisi aktif enzim biasanya bertindak sebagai fasilitator transfer elektron, pembentuk ikatan kovalen antara transisi, atau penjaga konformasi tiga dimensi dari kantong katalitik. Ketika gugus -SH tersebut mengalami tiolasi dan berubah menjadi gugus disulfida campuran yang berukuran lebih besar, konformasi spasial sisi aktif dapat mengalami distorsi geometris. Distorsi struktural tersebut menciptakan hambatan sterik yang menghalangi molekul substrat alami bakteri untuk masuk dan berikatan dengan sisi aktif enzim. Sehingga reaksi katalitis yang seharusnya berjalan untuk mendukung metabolisme seluler bakteri menjadi terhenti total secara mendadak.

Salah satu target enzim intraseluler utama yang paling menderita akibat serangan tiolasi alisin adalah kelompok enzim dehidrogenase. Enzim seperti alkohol dehidrogenase dan gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase merupakan pilar utama dalam jalur metabolisme bioenergetika dan glikolisis bakteri. Enzim gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase, misalnya, mutlak memerlukan gugus sistein sulfhidril bebas untuk mengikat molekul gula dan melanjutkan konversi menjadi energi. Ketika alisin mengoksidasi gugus tiol pada enzim tersebut, maka pemecahan glukosa untuk menghasilkan molekul piruvat dan energi ATP akan mengalami gangguan total. Bakteri yang kehilangan aktivitas dehidrogenase dapat mengalami krisis

energi akut yang melumpuhkan seluruh fungsi pemeliharaan selular basal. Selain enzim metabolisme karbohidrat, alisin juga mengincar enzim penentu dalam jalur biosintesis lipid bakteri, yaitu asetil-KoA sintetase. Enzim asetil-KoA sintetase memiliki gugus tiol esensial yang terlibat langsung dalam transfer gugus asetil untuk perpanjangan rantai asam lemak. Asam lemak merupakan komponen struktural utama yang dibutuhkan bakteri untuk membangun dan memperbaiki membran sitoplasma bakteri dari kerusakan luar. Melalui reaksi tiolasi, alisin menghentikan semua aktivitas asetil-KoA sintetase, sehingga proses sintesis lipid baru di dalam sitoplasma bakteri terhenti. Hambatan biokimia tersebut menyebabkan bakteri tidak mampu mempertahankan ketahanan membran selnya, sehingga mempercepat proses lisis mekanis saat bakteri mencoba membelah diri.

Mekanisme tiolasi oleh alisin dapat meluas hingga mengintervensi sistem transkripsi materi genetik melalui inhibisi enzim RNA polimerase bakteri. RNA polimerase merupakan kompleks multi-subunit yang mengandung beberapa residu sistein krusial yang menjaga stabilitas ikatan enzim dengan untai cetakan DNA. Reaksi tiolasi pada subunit inti RNA polimerase mengganggu kapasitas pemindaian kode genetik, sehingga sintesis mRNA baru tidak dapat berjalan. Tanpa ada produksi mRNA fungsional, maka ribosom bakteri kehilangan instruksi kerja untuk merakit protein struktural maupun protein pertahanan seluler. Pembatasan transkripsi yang masif tersebut menyebabkan koloni bakteri dalam kondisi stagnasi biologis yang fatal dan tidak dapat dipulihkan kembali. Sifat mematikan dari reaksi tiolasi semakin diperkuat karena alisin juga menyerang sistem antioksidan internal bakteri itu sendiri. Bakteri sendiri juga memiliki mekanisme pertahanan alami berupa molekul tiol dengan berat molekul rendah, seperti glutathion atau mikotiol untuk menetralkan stres oksidatif. Alisin bereaksi secara cepat dengan molekul-molekul tiol protektif tersebut, sehingga cadangan antioksidan internal bakteri terkuras habis dalam waktu singkat. Keadaan tersebut memicu

terjadi lonjakan radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam sitoplasma sel patogen secara tidak terkendali. Stres oksidatif sekunder yang ekstrem dapat menyebabkan kerusakan berantai pada molekul DNA untai ganda bakteri, yang memicu fragmentasi materi genetik secara permanen. Reaksi tiolasi oleh alisin bersifat sangat non-spesifik terhadap semua protein yang mengandung gugus sulfhidril bebas di dalam sel mikroba. Karakteristik serangan multi-enzim yang acak namun menyeluruh tersebut dapat memberikan keunggulan biomedis yang luar biasa bagi ekstrak etanol bawang putih. Bakteri target terbukti sangat sulit untuk mengembangkan resistensi genetik yang efektif terhadap mekanisme kerja alisin yang kompleks. Sehingga agar mampu terhindar dari serangan tiolasi, bakteri harus memutasi ratusan gen yang mengkode seluruh protein enzim yang mengandung sulfhidril esensial secara bersamaan, suatu hal yang secara evolusioner hampir mustahil terjadi. Kondisi multi-target tersebut yang memastikan efikasi letal sediaan bawang putih tetap konsisten dari waktu ke waktu.

Standardisasi pemahaman mengenai kinetika reaksi tiolasi menuntut pengkondisian parameter lingkungan kimiawi laboratorium yang sangat ketat selama pengujian. Efektivitas reaksi pertukaran tiol-disulfida oleh alisin sangat sensitif terhadap perubahan tingkat keasaman atau pH lingkungan sitoplasma buatan. Kondisi media yang terlalu asam dapat menekan ionisasi gugus tiol bakteri menjadi bentuk tiolat yang reaktif, sehingga dapat memperlambat laju pembentukan ikatan disulfida campuran. Oleh karena itu, kestabilan pH media uji harus dijaga secara konstan pada ambang batas fisiologis normal bakteri untuk mencerminkan interaksi yang valid.

Secara keseluruhan, analisis biokimia mendalam mengenai inhibisi enzim yang memiliki ikatan sulfhidril melalui reaksi tiolasi oleh alisin dapat menjelaskan gambaran mekanisme antibakteri yang sangat jelas. Data ilmiah mengenai inaktivasi enzim dehidrogenase, pemutusan jalur sintesis lipid, hingga destruksi sistem transkripsi memberikan justifikasi rasional atas kekuatan bakterisidal bawang putih. Data

penelitian pada level molekuler diharapkan memperkokoh landasan ilmiah bagi pemanfaatan ekstrak etanol bawang putih sebagai agen terapeutik infeksi modern. Penelitian yang taat asas dan berbasis bukti data ilmiah dapat memberikan kontribusi berharga bagi khazanah sains kedokteran dasar. Penemuan yang dihasilkan diharapkan dapat memacu inovasi formulasi obat herbal terstandar yang andal demi memutus rantai krisis resistensi antimikroba di masa depan.

C. Gangguan Sintesis Asam Nukleat dan Replikasi DNA Bakteri

Gangguan pada sintesis asam nukleat dan proses replikasi DNA merupakan jalur mekanisme letal tingkat lanjut yang sangat krusial dari ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) dalam melumpuhkan koloni bakteri patogen. Asam nukleat, baik *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) maupun *Ribonucleic Acid* (RNA), adalah cetak biru genetik yang mengontrol seluruh ekspresi sifat, sintesis protein fungsional, serta kemampuan reproduksi seluler mikroba. Jika struktur atau fasa replikasi dari makromolekul asam nukleat tersebut mengalami gangguan dan kerusakan, maka sel bakteri dapat kehilangan kapasitas biologisnya untuk memperbanyak diri. Target intraseluler yang sangat spesifik tersebut menjadikan sediaan antibakteri bawang putih memiliki tingkat efikasi yang sangat tinggi. Senyawa bioaktif di dalam bawang putih mampu menembus jauh ke dalam inti sitoplasma untuk memutus rantai transmisi informasi genetik mikroba secara terarah.

Secara molekuler, replikasi DNA bakteri merupakan proses biokimia yang sangat kompleks dan melibatkan berbagai jenis enzim penting yang bekerja secara berurutan. Enzim DNA girase dan topoisomerase IV merupakan dua motor penggerak utama yang bertanggung jawab mengatur tingkat ketegangan dan stabilitas untai ganda DNA selama proses pembukaan pilinan berlangsung. DNA girase berfungsi untuk memotong dan menyambung kembali untai DNA guna menghilangkan superkoiling negatif yang terjadi di depan garpu replikasi. Senyawa aktif utama bawang putih, yaitu alisin memiliki

kemampuan untuk berikatan secara kovalen dengan residu asam amino sistein yang menyusun subunit katalitik dari enzim DNA girase tersebut. Efek tiolasi pada enzim tersebut mendistorsi struktur tiga dimensi kantong pengikat ATP, sehingga DNA girase kehilangan kemampuan mekanisnya untuk memotong dan mengendurkan ketegangan untai genetik.

Akibat inhibisi enzim DNA girase bakteri adalah terjadinya akumulasi superkoiling positif yang sangat padat pada untai ganda DNA bakteri seiring dengan majunya garpu replikasi. Garpu replikasi akan mengalami gangguan mekanis yang parah karena untai ganda di depannya menjadi terlalu kencang (kuat) untuk dipisahkan oleh enzim helikase. Gangguan replikasi yang berkepanjangan memicu terjadi cekaman replikasi (*replication stress*) yang sangat kuat di dalam lingkungan sitoplasma mikroba. Sel bakteri yang mengalami cekaman tersebut secara otomatis akan menghentikan seluruh siklus pembelahan selulernya untuk menginisiasi sistem perbaikan darurat. Kegagalan fasa replikasi dapat menjadi alasan logis mengapa jumlah koloni bakteri uji mengalami penurunan drastis setelah terpapar ekstrak etanol bawang putih.

Selain menghambat enzim regulator pilinan, molekul alisin juga menunjukkan kemampuan interaksi langsung dengan struktur basa nitrogen yang menyusun untai DNA bakteri. Alisin dapat mengoksidasi gugus tiol pada protein histon-seperti (histone-like proteins) yang berfungsi mengemas dan melindungi untai DNA sirkular bakteri. Ketika protein pelindung tersebut terdenaturasi akibat reaksi kimia dengan senyawa sulfur, untai ganda DNA bakteri akan menjadi sangat terbuka dan rapuh. Kondisi fisik untai DNA yang tidak terlindungi menjadikannya sangat rentan terhadap serangan senyawa radikal bebas atau ROS. Lonjakan kadar ROS internal yang dipicu oleh akumulasi senyawa sulfur akan menyebabkan terjadinya pemutusan untai ganda DNA (*DNA double-strand breaks*) secara acak.

Pemutusan untai ganda DNA yang masif merupakan kerusakan genetik paling fatal yang hampir mustahil untuk diperbaiki secara sempurna oleh sistem internal bakteri. Meskipun bakteri memang memiliki mekanisme perbaikan DNA darurat seperti sistem SOS (*SOS response*), yang dapat menyambung kembali fragmen-fragmen genetik yang terputus. Namun, paparan ekstrak etanol bawang putih secara simultan juga merusak fungsionalitas protein RecA, yang merupakan induktor utama dari jalur penyelamatan SOS tersebut. Alisin mengikat sisi aktif RecA melalui jembatan disulfida campuran, sehingga protein tersebut tidak mampu mengenali area kerusakan DNA untai tunggal. Dengan lumpuhnya sistem SOS maka fragmen-fragmen DNA bakteri yang rusak akan dibiarkan menumpuk di dalam sitoplasma tanpa ada proses rekonstruksi genetik.

Dampak kerusakan struktur DNA dapat berlanjut pada pemutusan jalur transkripsi untuk memproduksi molekul *Ribonucleic Acid* (RNA) baru. Enzim RNA polimerase, yang bertugas membaca kode genetik pada DNA cetakan untuk dirubah menjadi messenger RNA (mRNA), tidak dapat berjalan melintasi untai DNA yang telah terfragmentasi. Selain terhambat oleh kerusakan fisik untai cetakan, enzim RNA polimerase juga mengalami inaktivasi struktural langsung oleh alisin melalui reaksi tiolasi subunit intinya. Tanpa ada transkripsi mRNA yang berjalan, pasokan kode instruksi untuk perakitan protein pada organel ribosom akan terputus secara total. Kegagalan proses tersebut menyebabkan sel bakteri kehilangan komponen pembangun utama (protein), sehingga sel bakteri mengalami kehilangan fungsional secara sistemik dalam waktu yang relatif singkat. Intervensi ekstrak etanol bawang putih pada level asam nukleat juga terbukti sangat efektif untuk menghambat replikasi molekul DNA ekstrakromosom yang dikenal sebagai plasmid. Plasmid sering kali membawa gen-gen penyandi sifat resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik modern, seperti gen *extended-spectrum beta-lactamase* (ESBL). Molekul bioaktif bawang putih mampu menginduksi eliminasi

plasmid (*plasmid curing*) dengan cara mengganggu sinkronisasi replikasi plasmid dengan replikasi kromosom utama bakteri. Melalui pembersihan plasmid resisten, maka bakteri patogen yang awalnya kebal terhadap obat-obatan komersial dapat dikembalikan menjadi galur yang sensitif. Potensi curing ini membuka peluang besar bagi pemanfaatan bawang putih sebagai agen pembantu (*adjuvant*) untuk meningkatkan kembali efikasi antibiotik konvensional. Campuran kompleks fitokimia non-sulfur di dalam ekstrak etanol, seperti senyawa flavonoid dan saponin, juga ikut memperkuat aksi pengrusakan asam nukleat ini. Flavonoid memiliki kemampuan interkalsi, di mana molekulnya yang berbentuk planar dapat menyelip masuk di antara celah pasangan basa nitrogen untai ganda DNA. Interkalsi flavonoid mampu menghasilkan distorsi lokal pada sumbu heliks DNA, yang mengacaukan proses pengenalan promotor oleh protein regulator transkripsi bakteri. Sinergisme antara aksi kimiawi alisin yang merusak enzim dan aksi fisik flavonoid yang menginterkalsi untai DNA menciptakan kombinasi serangan berlapis. Karakteristik serangan multipel tersebut yang menjadi alasan mengapa varian bakteri mutan sangat sulit membangun pertahanan terhadap sediaan ekstrak bawang putih. Standardisasi riset biomedis untuk membuktikan gangguan sintesis asam nukleat membutuhkan penggunaan instrumentasi laboratorium modern yang sangat sensitif. Evaluasi fragmentasi DNA bakteri secara molekuler dapat diamati melalui teknik elektroforesis gel agarosa, DNA yang rusak memperlihatkan pola smear yang khas. Standar penurunan laju sintesis RNA dapat diukur secara presisi memanfaatkan metode *Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR) untuk melihat ekspresi gen tertentu. Seluruh tahapan isolasi asam nukleat dari sel bakteri yang telah terpapar ekstrak harus dijaga dari kontaminasi enzim nuklease luar agar data yang diperoleh valid. Penggunaan metode yang tepat menjamin bahwa fenomena degradasi genetik yang terbaca murni merupakan hasil intervensi bioaktif bawang putih.

Mekanisme gangguan sintesis asam nukleat dan replikasi DNA bakteri menjadi landasan teori biomedis yang sangat komprehensif. Bukti kuantitatif mengenai inaktivasi DNA girase, pemutusan untai ganda, hingga eliminasi plasmid resisten memberikan jawaban logis atas kemampuan letal ekstrak etanol bawang putih. Pemahaman biokimia yang mendalam pada ranah biologi molekuler menghasilkan kelayakan bawang putih untuk dikembangkan menjadi sediaan fitofarmaka masa depan. Investigasi laboratorium yang taat asas dan sistematis sangat berkontribusi dalam memperkaya khazanah sains kedokteran dasar di Indonesia. Penemuan yang diperoleh diharapkan dapat memacu riset lanjutan guna melahirkan terapi alternatif yang efektif untuk mengatasi ancaman krisis resistensi antimikroba global.

D. Penghambatan Sistem Transpor Elektron dan Produksi ATP

Penghambatan sistem transpor elektron dan produksi Adenosine Triphosphate (ATP) merupakan puncak dari gangguan bioenergetika seluler yang diinduksi oleh ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) pada bakteri patogen. Energi dalam bentuk ATP adalah sumber energi utama yang mutlak diperlukan oleh setiap sel hidup untuk menggerakkan seluruh proses metabolisme, transpor aktif molekul, hingga replikasi seluler. Sistem transpor elektron bakteri yang terletak pada membran sitoplasma bertindak sebagai mesin utama dalam mengonversi energi kimia dari nutrisi menjadi bentuk energi potensial elektrokimia. Intervensi molekuler yang dilancarkan oleh senyawa aktif bawang putih menasar komponen-komponen inti dari rantai respirasi di mitokondria. Kelumpuhan pada sistem konversi energi memaksa bakteri masuk ke dalam kondisi krisis bioenergetika akut yang secara instan menghentikan seluruh aktivitas kehidupan mikroba. Secara biokimia, rantai transpor elektron bakteri terdiri dari serangkaian kompleks protein membran integral dan pembawa elektron mobile yang bekerja secara estafet memindahkan elektron dari donor menuju akseptor akhir. Kompleks-kompleks

protein tersebut, seperti NADH dehidrogenase (Kompleks I) dan sitokrom oksidase, sangat kaya akan pusat besi-sulfur (Fe-S clusters) dan residu asam amino sistein. Senyawa organosulfur utama dari ekstrak bawang putih, yaitu alisin, memiliki afinitas kimiawi yang sangat kuat untuk menyerang residu sistein dan pusat besi-sulfur tersebut melalui reaksi pertukaran tiol-disulfida. Proses tiolasi pada Kompleks I mengganggu kemampuan transfer elektron dari molekul NADH ke pembawa elektron berikutnya seperti kuinon. Hambatan aliran elektron pada fase awal respirasi dapat menyebabkan penghentian seluruh rangkaian aliran reduksi-oksidasi di sepanjang membran sitoplasma.

Dampak langsung dari hambatan aliran elektron pada kompleks respirasi tersebut adalah kegagalan pemompaan ion hidrogen atau proton dari dalam sitoplasma menuju ruang periplasma. Dalam kondisi fisiologis normal, energi yang dilepaskan selama transfer elektron digunakan secara mekanis oleh kompleks protein untuk memompa proton keluar, sehingga menciptakan gradien konsentrasi proton yang besar. Gradien tersebut menghasilkan perbedaan muatan listrik dan pH yang dikenal sebagai *Proton Motive Force* (PMF). Ketika alisin melumpuhkan kompleks respirasi, aktivitas pemompaan proton terhenti seketika, yang mengakibatkan penurunan drastis pada nilai potensial elektrokimia membran. Tanpa ada PMF yang stabil, bakteri kehilangan daya penggerak utama untuk mengaktifkan mesin pembuat energi di dalam selnya. Sistem sintesis ATP bakteri sangat bergantung pada enzim utama yang tertanam di membran sitoplasma, yaitu F_1F_0 -ATP sintase, yang bekerja dengan memanfaatkan aliran balik proton dari PMF. Enzim ATP sintase bertindak seperti turbin molekuler, di mana aliran proton yang masuk kembali ke sitoplasma melalui saluran F_0 akan memutar subunit F_1 untuk mengatalisis sintesis ATP dari ADP dan fosfat anorganik. Ekstrak etanol bawang putih merusak jalur tersebut dari dua arah jalur biokimia yang saling memperkuat. Pertama, hilangnya gradien proton akibat terhentinya transpor elektron sehingga menghilangkan pasokan

tenaga penggerak untuk memutar turbin F_1F_0 . Kedua, molekul alisin juga berikatan secara kovalen langsung pada residu sistein fungsional yang terletak pada sisi katalitik subunit F_1 , sehingga menghambat pergerakan konformasi enzim tersebut secara permanen.

Kelumpuhan pada aktivitas F_1F_0 -ATP sintase dapat menyebabkan produksi molekul energi ATP di dalam sel bakteri menurun tajam hingga mencapai level yang tidak lagi mampu menopang kehidupan. Bakteri yang mengalami penurunan kadar ATP intraseluler secara drastis akan segera menghentikan semua proses sintesis makromolekul, termasuk sintesis protein fungsional pada ribosom dan sintesis peptidoglikan baru. Energi yang tersisa di dalam sitoplasma akan terus berkurang dalam waktu singkat karena sel berusaha keras mempertahankan homeostasis internal yang rusak. Kondisi stravasi (kebocoran) energi yang ekstrem dapat dengan cepat memicu transisi sel dari fase stasioner menuju fase kematian biologis sebelum bakteri sempat melakukan adaptasi metabolik. Selain menyerang kompleks protein respirasi, senyawa aktif bawang putih juga mengganggu fungsi pembawa elektron larut lipid yang bergerak bebas di dalam membran, seperti menakuinon atau ubikuinon. Senyawa flavonoid polifenolik yang melimpah dalam ekstrak etanol mampu menyusup ke dalam fasa hidrofobik membran sitoplasma bakteri karena karakteristik strukturnya. Flavonoid berinteraksi secara kompetitif dengan sisi pengikatan kuinon pada protein membran, sehingga menghalangi mobilisasi elektron antarkompleks. Intervensi fisik oleh flavonoid dapat bersinergi dengan aksi kimiawi alisin dalam memutus rantai transpor elektron dari berbagai titik kritis. Kombinasi serangan berlapis tersebut memastikan bahwa sistem respirasi bakteri lumpuh total tanpa menyisakan jalur alternatif untuk menghasilkan energi. Ketiadaan pasokan ATP juga membawa dampak dominan yang sangat merusak pada sistem transpor aktif yang terletak pada membran sel bakteri. Pompa ion sensitif-ATP yang bertugas menjaga keseimbangan konsentrasi natrium, kalsium, dan hidrogen internal dapat mengalami kehilangan

sumber daya utamanya untuk bekerja. Malfungsi sistem pompa ion tersebut mengakibatkan air dan ion-ion lingkungan luar masuk secara tidak terkendali ke dalam sitoplasma akibat perbedaan tekanan osmotik. Sel bakteri akan mulai membengkak secara abnormal seiring dengan melemahnya kekuatan mekanis dinding sel yang telah didegradasi oleh ekstrak. Tekanan hidrostatik internal yang tidak lagi dapat diimbangi oleh membran yang telah mengalami kerusakan dan akhirnya memicu peristiwa autolisis seluler. Mekanisme penghambatan bioenergetika tersebut juga terbukti sangat efektif untuk melumpuhkan fungsi motor flagela pada bakteri Gram-negatif yang memiliki kemampuan bergerak (motilitas). Motor flagela bakteri digerakkan secara langsung oleh aliran proton dari sistem PMF melintasi kompleks protein stators membran. Kehancuran PMF akibat paparan ekstrak etanol bawang putih menyebabkan motor flagela kehilangan daya mekanisnya, sehingga bakteri mengalami imobilisasi atau kehilangan kemampuan bergerak secara instan. Kehilangan motilitas dapat sangat merugikan bagi bakteri patogen karena mereka tidak lagi mampu melakukan kemotaksis untuk mendekati sumber nutrisi atau menempel pada jaringan inang untuk memulai proses infeksi. Standardisasi eksperimental untuk membuktikan penurunan kadar ATP dan gangguan rantai respirasi memerlukan instrumentasi laboratorium berspesifikasi tinggi untuk menjamin akurasi data. Evaluasi kuantitatif kadar ATP intraseluler secara empiris dapat diukur dengan memanfaatkan metode berbasis pendaran cahaya atau *luciferase luminescence assay*. Selain itu, penurunan aktivitas transpor elektron dapat dipantau secara *real-time* melalui pengukuran laju konsumsi oksigen seluler menggunakan elektroda oksigen tipe Clark. Preparasi sampel bakteri harus dilakukan secara cepat dan aseptik guna mencegah terjadi degradasi ATP alami oleh enzim ATPase endogen sel yang dapat mendistorsi hasil pembacaan.

Analisis mendalam mengenai mekanisme penghambatan sistem transpor elektron dan produksi ATP dapat menjelaskan gambaran yang sangat utuh mengenai efikasi letal ekstrak etanol bawang putih. Data kuantitatif tentang penurunan drastis kadar energi, kehancuran potensial membran, hingga inaktivasi fungsi sintase memberikan argumentasi logis yang tidak terbantahkan. Pemahaman biokimia pada tingkat molekuler bioenergetika dapat mengukuhkan status bawang putih sebagai agen antibakteri sistemik yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat herbal terstandar. Investigasi laboratorium yang sistematis dan berbasis bukti memberikan kontribusi yang sangat berharga bagi perkembangan sains biomedis dasar. Hasil penemuan yang diperoleh diharapkan dapat terus dikembangkan guna melahirkan solusi terapi alternatif yang efektif dalam menghadapi krisis global resistensi antimikroba.

E. Gangguan Komunikasi Antar Sel Bakteri (*Quorum Sensing*)

Gangguan pada sistem komunikasi antar-sel bakteri atau *quorum sensing* merupakan mekanisme antibakteri non-letal tingkat lanjut yang sangat strategis dari ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*). *Quorum sensing* adalah sistem regulasi ekspresi gen berbasis kepadatan populasi yang digunakan oleh bakteri untuk berkomunikasi dan mengkoordinasikan aktivitas bersama bakteri. Mekanisme komunikasi tersebut bergantung pada produksi, pelepasan, dan deteksi molekul sinyal kimia spesifik yang disebut autoinduser ke lingkungan eksternal. Ketika populasi bakteri mencapai kepadatan kritis atau kuorum, akumulasi molekul autoinduser dapat memicu kaskade transduksi sinyal intraseluler secara serentak. Gangguan terhadap jalur komunikasi tersebut menempatkan sediaan fitofarmaka bawang putih sebagai agen antipatogenik potensial yang mampu menghancurkan virulensi kolektif mikroba tanpa harus langsung memicu tekanan selektif untuk membunuh sel mikroba. Bakteri Gram-negatif dan Gram-positif memanfaatkan jenis molekul sinyal autoinduser yang berbeda secara struktural untuk menjalankan fungsi *quorum sensing*. Bakteri Gram-negatif

umumnya mengandalkan molekul Acyl-Homoserine Lactone (AHL), sedangkan bakteri Gram-positif menggunakan peptida autoinduser terolah atau *Oligopeptide Autoinducers* (AIP). Molekul bioaktif utama di dalam bawang putih, terutama senyawa organosulfur ajoene dan alisin, menunjukkan kapasitas luar biasa untuk mengintervensi kedua sistem molekuler tersebut. Ajoene memiliki kemiripan struktural parsial dengan ekor alifatik hidrofobik dari molekul AHL yang diproduksi oleh bakteri Gram-negatif. Kemiripan struktur kimiawi tersebut memungkinkan sediaan aktif bawang putih bertindak sebagai inhibitor kompetitif yang mengganggu stabilitas reseptor sensor sitoplasma bakteri. Dampak langsung keberadaan ajoene di lingkungan mikroba adalah terjadinya hambatan kompetitif pada protein reseptor regulator intraseluler, seperti protein LuxR pada Gram-negatif. Ajoene dapat menempel pada kantong pengikat ligan dari protein LuxR, sehingga menghalangi molekul AHL bakteri untuk berikatan dengan reseptor LuxR. Ikatan antara ajoene dan LuxR bersifat semu dan tidak memicu terjadinya aktivasi alosterik ataupun oligomerisasi protein reseptor menjadi bentuk fungsional. Akibatnya, kompleks protein regulator yang inaktif tersebut tidak mampu berikatan dengan elemen promotor spesifik pada untai DNA genomik bakteri. Fenomena disrupsi pengikatan tersebut menghentikan transkripsi gen-gen hilir yang bertanggung jawab penuh atas kendali virulensi dan perilaku bakteri target.

Salah satu konsekuensi paling nyata dari kelumpuhan sistem *quorum sensing* adalah kegagalan total bakteri dalam membentuk pertahanan lapisan biofilm. Biofilm merupakan matriks ekstraseluler pelindung yang kaya polisakarida, protein, dan DNA eksogen yang disintesis secara bersamaan oleh koloni bakteri secara terkoordinasi. Pembentukan biofilm memerlukan perintah dari sinyal *quorum sensing* agar bakteri beralih dari fase hidup planktonik menjadi fase *sessile* (melekat yang kokoh). Ketika ekstrak etanol bawang putih memutus rantai komunikasi tersebut, transkripsi gen penyandi sintesis ekso polisakarida pelindung akan dihambat secara signifikan. Bakteri akan tetap

berada dalam fase plangtonik, sehingga mereka menjadi sangat rapuh terhadap serangan mekanis maupun agen disinfektan luar.

Selain mencegah pembentukan biofilm baru, molekul aktif bawang putih juga mampu mendegradasi struktur biofilm mature yang sudah menempel pada permukaan jaringan. Senyawa alisin bekerja dengan merusak integritas protein pengikat matriks biofilm melalui reaksi pertukaran tiol-disulfida yang cepat pada struktur protein penyusun ekstraseluler. Penghancuran jembatan disulfida struktural dapat menurunkan konsistensi matriks gel polimerik, sehingga memicu peristiwa pelepasan atau dispersi sel bakteri secara prematur dari koloni pelindungnya. Bakteri yang terdispersi ke luar dalam kondisi lemah tersebut sudah tidak memiliki pertahanan seluler yang tebal. Efek destruksi biofilm tersebut dapat membuka peluang klinis yang besar untuk mengeliminasi infeksi kronis yang biasanya sangat resisten terhadap terapi antibiotik konvensional. Kelompok sistem komunikasi tersebut juga berdampak dominan pada penghentian sekresi berbagai macam enzim virulensi ekstraseluler dan toksin eksogen berbahaya ke jaringan inang. Bakteri patogen oportunistik seperti *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan *quorum sensing* untuk mengontrol sintesis enzim elastase, protease, dan pigmen piocyanin secara massal. Enzim-enzim ekstraseluler tersebut berfungsi merusak matriks kolagen jaringan inang guna memfasilitasi invasi dan penyebaran infeksi bakteri ke organ dalam. Paparan komponen aktif ekstrak etanol bawang putih secara molekuler terbukti menekan ekspresi gen pengkode enzim perusak tersebut hingga mencapai level terendah. Kehilangan aktivitas enzimatik tersebut menjadikan koloni bakteri kehilangan daya rusak klinisnya, sehingga infeksi dapat diatasi secara lokal. Mekanisme hambatan *quorum sensing* juga terbukti efektif dalam memutus komunikasi antar-spesies yang diperantarai oleh molekul autoinduser universal tipe dua atau AI-2. Banyak galur bakteri patogen yang berbeda spesies hidup berdampingan dalam satu lokasi infeksi dan menggunakan AI-2 untuk

mengoordinasikan resistensi multiobat bersama. Senyawa flavonoid non-sulfur polifenolik yang melimpah di dalam ekstrak etanol bawang putih mampu menghambat aktivitas enzim LuxS yang memproduksi molekul AI-2. Melalui pemutusan jalur komunikasi lintas spesies tersebut, bawang putih mencegah terjadinya transfer plasmid resistensi dan koordinasi defensif antar-bakteri yang berbeda golongan. Efek pelemahan kolektif dapat mempermudah sistem kekebalan tubuh inang untuk mengeliminasi infeksi secara alami tanpa bantuan dosis obat kimia yang ekstrem. Keunggulan biomedis utama dari strategi intervensi *quorum sensing* atau *quorum quenching* adalah minimnya risiko pemicu mutasi resistensi pada bakteri. Antibiotik komersial bekerja dengan cara membunuh sel secara langsung atau menghentikan pertumbuhan, yang memberikan tekanan selektif ekstrem bagi bakteri untuk bermutasi untuk bertahan hidup. Sebaliknya, agen *quorum quenching* bawang putih hanya mengatasi kemampuan koordinasi dan virulensi bakteri tanpa mengancam kelangsungan hidup basal seluler individu. Karena bakteri tidak menghadapi ancaman kematian instan, dorongan evolusioner untuk mengembangkan mekanisme pertahanan genetik baru terhadap ekstrak menjadi sangat rendah. Karakteristik non-tekanan tersebut menjadikan bawang putih sebagai solusi jangka panjang yang sangat andal untuk mengatasi kebuntuan inovasi antibiotik global. Standardisasi eksperimental untuk mengevaluasi aktivitas gangguan komunikasi antar-sel membutuhkan model biosensor bakteri spesifik guna menjamin validitas data. Peneliti umumnya memanfaatkan galur bakteri indikator mutan seperti *Chromobacterium violaceum* atau Biomarker *Pseudomonas* yang mampu memproduksi pigmen warna ungu jika mendeteksi AHL. Aktivitas *quorum quenching* dari ekstrak etanol bawang putih terbukti secara ilmiah apabila pertumbuhan bakteri indikator tetap normal namun produksi pigmen ungu hilang total. Pengkondisian konsentrasi ekstrak harus dipastikan berada di bawah ambang batas nilai MIC agar efek hambatan murni berasal dari pemutusan komunikasi,

bukan karena kematian sel. Protokol penggunaan metode terstandar menjamin data antipatogenik yang diperoleh bersifat objektif, rasional, dan sah.

Secara keseluruhan, mekanisme gangguan komunikasi antar-sel bakteri (*quorum sensing*) dapat melengkapi konseptualisasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol bawang putih secara komprehensif. Data ilmiah mengenai inhibisi kompetitif reseptor LuxR, kegagalan sintesis matriks biofilm, hingga penekanan sekresi enzim virulensi menyajikan argumen biomedis yang sangat kuat. Pemahaman logis pada ranah biologi perilaku mikroba membuka cakrawala baru bagi pemanfaatan sediaan herbal bawang putih terstandardisasi sebagai terapi anti-virulensi modern.

BAB 9

PROSPEK FORMULASI, APLIKASI KLINIS, DAN TANTANGAN MASA DEPAN

A. Pengembangan Sediaan Farmasi Berbasis Ekstrak Etanol Bawang Putih

Pengembangan sediaan farmasi berbasis ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) merupakan langkah hilir yang sangat strategis untuk mengubah potensi biokimia bawang putih skala laboratorium menjadi produk terapi yang siap pakai bagi masyarakat. Tantangan terbesar dalam pemanfaatan ekstrak kasar bahan alam adalah bagaimana menjaga agar senyawa bioaktif yang sensitif tetap stabil dan memiliki efek terapi yang konsisten saat diproduksi dalam skala industri. Karakteristik molekul organosulfur, terutama alisin, yang bersifat volatil dan mudah mengalami dekomposisi termal menuntut penerapan teknologi formulasi modern. Melalui pendekatan inovatif di bidang teknologi farmasi, kelemahan fisikokimia ekstrak dapat diatasi tanpa mengurangi khasiat antibakterinya yang kuat. Proses tersebut membutuhkan pemilihan eksipien yang tepat, optimalisasi metode manufaktur, serta desain sistem penghantaran obat yang mampu mengantarkan zat aktif ke sisi target secara presisi.

Salah satu fokus utama dalam inovasi formulasi adalah penerapan teknologi nano untuk enkapsulasi senyawa aktif bawang putih. Sistem penghantaran berbasis nanopartikel, seperti *Liposome*, *Solid Lipid Nanoparticles (SLN)*, atau *Polymeric Nanoparticles*, terbukti efektif melindungi monomer alisin dari degradasi hidrolitik. Dalam sediaan nano-enkapsulasi, molekul

organosulfur dapat tertahan dengan aman di dalam inti hidrofobik atau lipid bilayer pelindung. Proteksi secara fisik tersebut dapat mencegah terjadi kontak langsung antara zat aktif dengan uap air, oksigen, atau variasi keasaman eksternal yang ekstrem selama masa penyimpanan produk. Selain meningkatkan stabilitas kimia sediaan, ukuran partikel yang berada dalam skala nanometer secara eksponensial memperluas total luas permukaan kontak sediaan farmasi saat diaplikasikan ke sistem biologis pasien.

Peningkatan luas permukaan kontak melalui nanoteknologi berkontribusi langsung pada perbaikan profil bioavailabilitas zat aktif di dalam cairan tubuh. Banyak senyawa non-sulfur berkhasiat di dalam bawang putih, seperti flavonoid aglikon yang ditarik pelarut etanol, memiliki tingkat kelarutan yang rendah dalam media air fasa biologis. Dengan memperkecil ukuran partikel ekstrak total hingga skala nano, laju disolusi senyawa lipofilik tersebut dapat ditingkatkan secara signifikan sesuai dengan hukum mekanika disolusi Noyes-Whitney. Peningkatan laju kelarutan tersebut memastikan bahwa seluruh kompartemen senyawa sulfur dan non-sulfur dapat diserap secara optimal oleh membran mukosa atau saluran cerna. Efikasi terapeutik sediaan herbal pun dapat dicapai pada tingkat dosis yang lebih rendah, yang secara otomatis dapat mengurangi konsumsi volume sediaan yang berlebihan.

Pengembangan sediaan topikal berbasis ekstrak etanol bawang putih juga memperlihatkan prospek klinis yang sangat cerah untuk mengatasi infeksi kulit supuratif. Formulasi berupa emulgel, krim, atau salep terstandarisasi dirancang khusus untuk memfasilitasi penghantaran transdermal molekul organosulfur melintasi lapisan stratum korneum yang kaku. Sediaan emulgel, yang menggabungkan struktur emulsi cair dengan matriks hidrogel, sangat disukai karena memberikan efek dingin saat diaplikasikan sekaligus menjaga stabilitas partikel minyak atsiri. Senyawa flavonoid dan saponin amfifilik di dalam ekstrak bertindak sebagai penambah penetrasi alami (*natural penetration enhancers*) yang melunakkan lipid antarsel

12 kulit. Efek pelunakan mukosa mempermudah penetrasi alisin ke lapisan epidermis yang lebih dalam guna membasmi koloni *Staphylococcus aureus*. Selain sediaan topikal, formulasi sediaan oral berbentuk tablet salut selaput (*film-coated tablets*) atau kapsul keras berisi pelet juga dikembangkan secara intensif. Desain salut enterik (*enteric coating*) diterapkan pada sediaan tablet oral bertujuan untuk melindungi enzim aliinase dan senyawa alisin dari paparan cairan asam lambung yang ekstrim. Polimer salut enterik dirancang untuk tidak larut pada kondisi lingkungan lambung yang asam, namun akan melarut secara cepat saat memasuki lingkungan usus halus yang memiliki pH netral. Pelepasan terarah di usus halus memastikan bahwa reaksi enzimatik pengaktifan alisin dapat berlangsung secara tuntas di dalam lumen usus. Mekanisme proteksi lambung menjamin integritas biokimia zat aktif bawang putih hingga siap diserap oleh pembuluh darah mesenterika pasien. Pemanfaatan eksipien modern pembentuk kompleks inklusi, seperti siklodekstrin (terutama beta-siklodekstrin), menjadi strategi cerdas lainnya untuk mengatasi masalah organoleptik bawang putih. Bau menyengat yang tajam dan rasa pedas dari senyawa sulfur volatil sering kali menjadi penghambat utama bagi kenyamanan dan kepatuhan pasien dalam mengonsumsi sediaan herbal. Struktur molekul beta-siklodekstrin yang menyerupai kerucut terpotong memiliki rongga bagian dalam yang bersifat hidrofobik dan permukaan luar yang bersifat hidrofilik. Molekul alisin atau dialil disulfida yang volatil dapat menyusup dan terperangkap di dalam rongga hidrofobik tersebut membentuk kompleks inklusi yang stabil. Penjebakan molekuler tersebut secara efektif menekan penguapan dini senyawa sulfur, sehingga aroma tajam bawang putih dapat diredam secara signifikan tanpa merusak khasiat biologisnya. Standardisasi parameter fisik sediaan farmasi menjadi indikator mutu yang wajib dipenuhi dalam setiap siklus manufaktur di pabrik herbal modern. Sediaan padat seperti tablet, perlu pengujian ketat terhadap parameter waktu hancur, keragaman bobot, dan kekerasan tablet harus mengacu pada standar Farmakope

Indonesia. Proses pencetakan tablet harus dikendalikan agar tidak menimbulkan panas mekanis yang berlebihan yang dapat memicu degradasi dini molekul organosulfur termolabil. Sedangkan sediaan semi-padat seperti emulgel, pemantauan viskositas, daya sebar, serta stabilitas fasa emulsi melalui uji sentrifugasi wajib dilakukan secara berkala. Konsistensi parameter fisik sediaan berbanding lurus dengan kepastian pelepasan zat bioaktif yang seragam di setiap batch produksi.

Integrasi teknologi pengeringan semprot (*spray drying*) atau pengeringan beku (*freeze drying*) diaplikasikan untuk merubah ekstrak etanol cair menjadi bentuk serbuk kering yang stabil. Proses pengeringan semprot memanfaatkan penambahan material pengisi seperti maltodekstrin yang bertindak sebagai agen penyalut pelindung selama fasa penguapan pelarut berlangsung. Cairan ekstrak diatomisasi menjadi butiran mikro di dalam ruang pengering bersuhu terkontrol, menghasilkan serbuk halus dengan kadar air minimal di bawah lima persen. Kadar air yang sangat rendah efektif menghentikan aktivitas enzim hidrolitik internal yang dapat memicu pembongkaran zat aktif secara prematur selama penyimpanan. Bentuk sediaan serbuk kering terstandarisasi memiliki daya simpan jangka panjang yang jauh lebih baik serta mempermudah proses penanganan bahan baku sediaan. Aspek kelayakan ekonomi dan keberlanjutan pasokan bahan baku juga menjadi pertimbangan penting dalam merancang rantai produksi sediaan farmasi. Komoditas bawang putih lokal memiliki ketersediaan yang melimpah ruah di Indonesia, sehingga menjamin stabilitas harga bahan mentah bagi industri farmasi herbal. Efisiensi penggunaan pelarut etanol juga dapat ditingkatkan melalui penerapan sistem distilasi sirkuit tertutup, di mana uap etanol sisa evaporasi dikondensasikan kembali untuk digunakan pada proses ekstraksi berikutnya. Pendekatan manufaktur hijau (*green manufacturing*) ini secara signifikan mampu memangkas biaya utilitas operasional pabrik sekaligus mengurangi pembuangan limbah kimia ke ekosistem sekitar. Efisiensi biaya produksi

berdampak positif pada keterjangkauan harga jual produk akhir bagi seluruh lapisan masyarakat.

B. Aspek Toksisitas, Keamanan Biologis, dan Uji *In Vivo*

Evaluasi toksisitas dan keamanan biologis merupakan tahapan wajib sebelum ekstrak etanol bawang putih diaplikasikan secara klinis. Pengujian laboratorium yang sukses tidak serta-merta menjamin keamanan pada sistem biologis yang kompleks. Peneliti lebih lanjut diperlukan dalam memvalidasi temuan tersebut melalui pengujian *in vivo* menggunakan hewan coba mamalia. Pendekatan tersebut memberikan gambaran komprehensif mengenai interaksi senyawa organosulfur dengan sistem fisiologis tubuh secara utuh. Data dari uji *in vivo* menjadi jembatan penentu untuk melangkah ke tahapan uji klinis pada manusia. Keamanan pasien selalu menjadi prioritas utama dalam setiap pengembangan sediaan fitofarmaka modern. Uji toksisitas akut bertujuan menetapkan nilai *Lethal Dose* 50 (LD₅₀) dari sediaan ekstrak etanol bawang putih. Pengujian toksisitas tersebut melibatkan pemberian dosis tunggal dalam jumlah besar kepada hewan coba untuk mengamati efek toksik langsung. Secara historis, bawang putih menempati status aman secara umum atau *Generally Recognized as Safe* dalam regulasi pangan global. Komponen biokimia bawang putih dapat dimetabolisme dan diekskresikan oleh tubuh dengan cara yang sangat aman dan alami. Hasil uji toksisitas akut secara konsisten menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih memiliki rentang keamanan yang sangat lebar. Ekstrak tersebut tidak memicu kematian pada hewan coba meskipun diberikan dosis oral yang sangat tinggi. Pengujian toksisitas subkronis dan kronis bertujuan untuk memantau efek samping penggunaan ekstrak dalam jangka waktu panjang. Pasien dengan infeksi kronis sering membutuhkan terapi berkelanjutan selama beberapa minggu. Hewan coba menerima dosis harian secara berulang untuk mensimulasikan kondisi terapi klinis tersebut. Peneliti fokus mengamati perubahan perilaku, fluktuasi berat badan, dan

tanda-tanda stres fisiologis pada hewan selama periode pemberian ekstrak. Pemantauan tersebut sangat penting untuk mendeteksi potensi akumulasi residu fitokimia di dalam jaringan tubuh. Data subkronis memberikan jaminan bahwa konsumsi jangka panjang sediaan herbal tidak memicu kerusakan seluler yang tersembunyi. Analisis histopatologi dan parameter biokimia darah menjadi indikator objektif dalam mengevaluasi fungsi organ penyaring. Sebagian besar antibiotik sintetik sering meninggalkan residu toksik yang membebani kerja nefron ginjal dan hepatosit hati. Sehingga peneliti wajib memeriksa kadar enzim serum *Glutamic Oxaloacetic Transaminase* dan serum *Glutamic Pyruvic Transaminase* untuk memastikan integritas hati. Kadar ureum dan kreatinin juga diukur secara presisi untuk memvalidasi fungsi ekskresi ginjal hewan coba. Ekstrak bawang putih terbukti mengurangi risiko timbulnya efek samping beracun pada organ penyaring tersebut. Organ hati dan ginjal hewan coba tetap mempertahankan struktur jaringan yang normal pasca-paparan ekstrak. Iritasi mukosa lambung merupakan parameter keamanan spesifik yang wajib dievaluasi terkait penggunaan sediaan bawang putih oral. Senyawa organosulfur volatil memiliki sifat pedas dan tajam yang berpotensi memicu hipersekresi asam lambung. Konsumsi ekstrak kasar dalam dosis tinggi saat perut kosong dapat menyebabkan rasa tidak nyaman atau lesi pada epitel lambung. Penggunaan hewan coba diharapkan dapat memantau integritas mukosa saluran pencernaan pasca-pemberian ekstrak. Hasil pengamatan pada hewan coba tersebut menjadi dasar ilmiah bagi perumusan sistem penghantaran obat yang presisi. Dalam mengatasi masalah tersebut, industri farmasi dapat menciptakan inovasi formulasi tablet salut enterik untuk melindungi lambung. Uji efikasi *in vivo* membuktikan kemampuan ekstrak bawang putih dalam mengatasi infeksi bakteri secara nyata di dalam tubuh inang. Hal tersebut dibuktikan melalui penelitian yang menginfeksi hewan coba dengan bakteri patogen target hingga mencapai kondisi bakteremia sistemik. Hewan coba kemudian menerima terapi ekstrak etanol bawang putih sesuai

dengan perhitungan dosis konversi klinis. Efektivitas terapi terukur melalui perhitungan laju penurunan jumlah koloni bakteri di dalam sirkulasi darah dan organ target. Parameter tingkat kesembuhan dan kelangsungan hidup hewan coba dibandingkan secara statistik dengan kelompok kontrol positif antibiotik. Pengujian tersebut memastikan bahwa sifat bakterisidal senyawa aktif benar-benar berfungsi optimal di dalam lingkungan sirkulasi darah yang kompleks. Evaluasi farmakokinetik pada model hewan coba memetakan profil absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dari molekul alisin. Alisin murni terbukti tidak stabil dan memiliki waktu paruh yang relatif singkat di dalam sirkulasi darah. Sistem biokimia tubuh dengan cepat merombak alisin menjadi senyawa turunan sekunder seperti dialil disulfida dan dialil trisulfida. Penggunaan instrumen kromatografi cair berkinerja tinggi dapat dilakukan untuk melacak konsentrasi senyawa bioaktif tersebut di dalam plasma darah secara berkala. Profil farmakokinetik menentukan frekuensi pemberian dosis yang paling ideal untuk menjaga konsentrasi zat aktif tetap bekerja secara efektif. Pemahaman rute metabolic menjamin rancangan dosis terapi menjadi lebih akurat dan rasional. Efek imunomodulator ekstrak bawang putih terlihat secara meyakinkan selama fase pengujian infeksi *in vivo*. Senyawa aktif dalam umbi bawang putih mampu meningkatkan aktivitas proliferasi sel limfosit t, sel pembunuh alami, dan pembentukan makrofag. Peningkatan populasi sel imun membuat tubuh mamalia menjadi jauh lebih siap dan agresif saat menghadapi invasi patogen asing. Makrofag yang teraktivasi mempercepat proses fagositosis untuk menelan sisa-sisa sel bakteri patogen. Sinergisme antara efek bakterisidal langsung dan stimulasi kekebalan inang dapat mempercepat penyembuhan jaringan yang meradang. Sistem imun hewan coba mendapatkan stimulasi positif yang krusial untuk mencegah infeksi sekunder terjadi. Potensi interaksi antara ramuan herbal dan obat medis di dalam tubuh model hewan coba juga perlu dilakukan dalam menghindari efek antagonis. Pasien infeksi sering kali mengonsumsi suplemen bawang putih

secara bersamaan dengan obat resep dokter. Senyawa organosulfur bawang putih terbukti mampu memodulasi aktivitas enzim sitokrom P450 di dalam organ hati mamalia. Modulasi enzim tersebut dapat mempercepat atau memperlambat laju eliminasi obat sintetik lain yang berada di dalam darah. Sehingga sangat dibutuhkan data farmakologi tersebut untuk mencegah terjadi toksisitas akumulatif atau kegagalan terapi medis standar. Penggunaan klinis menuntut regulasi persepahan dengan kehati-hatian yang tinggi saat mengintegrasikan fitofarmaka ke dalam terapi utama. Secara keseluruhan, rangkaian uji keamanan biologis dan toksisitas *in vivo* mengonfirmasi posisi bawang putih sebagai kandidat fitofarmaka masa depan. Data *in vivo* dari hewan coba membuktikan khasiat antimikroba yang kuat berjalan beriringan dengan keselamatan jaringan tubuh inang. Bahan alam menawarkan alternatif terapi dengan profil biokompatibilitas yang jauh lebih ramah terhadap sistem fisiologis manusia. Keseimbangan antara efikasi terhadap eliminasi patogen dan batas keamanan sistemik membangun pondasi kokoh bagi riset klinis lanjutan. Kumpulan bukti praklinis yang cukup dapat memenuhi syarat regulasi kesehatan untuk memulai uji klinis fase pertama pada manusia. Bawang putih sukses menjembatani batasan kaku yang memisahkan konsep makanan harian dan obat-obatan medis.

C. Tantangan Stabilitas Organoleptik dan Kimiawi Produk Formulasi

Tantangan stabilitas organoleptik dan kimiawi merupakan hambatan teknis utama yang harus dipecahkan dalam proses manufaktur produk sediaan farmasi berbasis bawang putih. Meskipun ekstrak etanol bawang putih memiliki daya hambat mikroba yang sangat kuat di laboratorium, zat aktif tersebut sangat rentan mengalami degradasi saat diubah menjadi sediaan komersial. Ketidakstabilan senyawa aktif dalam bawang putih bersumber dari karakteristik intrinsik molekul organosulfur yang dinamis dan sensitif terhadap fluktuasi

lingkungan fisikokimia. Produk farmasi yang ideal menuntut pemeliharaan mutu, efikasi, dan penampilan fisik yang seragam sepanjang masa edar obat. Kegagalan dalam mengendalikan parameter stabilitas senyawa aktif dalam suatu bahan alam dapat menyebabkan penurunan signifikan pada efikasi antibakteri serta penolakan konsumen akibat perubahan bau atau warna produk. Karakteristik organoleptik bawang putih yang paling problematik bagi kenyamanan konsumen adalah aroma menyengat yang tajam dan rasa pedas yang membakar mukosa mulut. Bau khas yang kurang menyenangkan dari bawang putih dihasilkan secara langsung oleh pelepasan senyawa organosulfur volatil seperti alisin, dialil disulfida, dan dialil trisulfida. Ketika konsumen membuka kemasan sediaan konvensional ekstrak bawang putih, penguapan senyawa volatil langsung mencemari udara di sekelilingnya secara radikal. Rasa pedas dan aroma tajam bawang putih sering kali menurunkan kepatuhan pasien untuk menyelesaikan regimen terapi herbal jangka panjang secara disiplin. Namun Industri farmasi herbal saat ini telah berhasil mengembangkan berbagai bentuk sediaan modern berbasis ekstrak bawang putih guna mengatasi masalah bau organoleptik.

Metode eliminasi aroma tajam yang dihasilkan oleh bawang putih terus dioptimalkan melalui rekayasa formulasi mutakhir, termasuk penerapan teknik penyalutan film dan mikroenkapsulasi. Formulasi produk seperti tablet salut selaput dibuat untuk mengikat senyawa volatil di dalam inti tablet, sehingga aroma tidak tercium sebelum sediaan ditelan. Penggunaan bahan penyalut hidrofobik yang *biocompatible* mampu menahan pelepasan gas sulfur secara mekanis selama produk berada di dalam kemasan. Di sisi lain, sediaan kapsul minyak bawang putih atau ekstrak bawang putih hitam juga menjadi alternatif populer yang efektif mengurangi bau organoleptik. Modifikasi organoleptik tersebut menggeser persepsi negatif masyarakat terhadap rasa menyengat obat herbal tanpa mengurangi kandungan zat bioaktif yang berkhasiat di dalamnya. Dari perspektif stabilitas kimiawi, alisin

dikenal memiliki ketidakstabilan termodinamika yang sangat ekstrem karena ikatan tiosulfinatnya mudah mengalami degradasi struktural. Pada suhu kamar, alisin di dalam sediaan cair dapat mengalami penataan ulang struktural secara bertahap dalam hitungan hari. Energi panas mampu memutus jembatan oksigen sulfoksida alisin, merubah alisin menjadi senyawa turunan sulfur sekunder yang bersifat larut minyak. Perubahan kimiawi tersebut menghasilkan senyawa turunan baru seperti ajoene, vinilditiin, diallyl sulfide, diallyl disulfide, dan diallyl trisulfide. Meskipun senyawa turunan sekunder tersebut tetap memiliki khasiat medis, perubahan komposisi kimia dapat mengganggu standardisasi dosis awal sediaan farmasi yang telah ditetapkan. Keberadaan molekul air di dalam formula produk juga bertindak sebagai katalisator yang mempercepat laju degradasi hidrolitik alisin. Dalam mengatasi permasalahan tersebut, dikembangkan teknologi farmasi yang memanfaatkan teknik pengeringan beku atau pengeringan semprot untuk merubah ekstrak cair menjadi serbuk kering murni. Pengeringan semprot menggunakan maltodekstrin atau gum arab sebagai matriks penyalut mikro yang mengisolasi partikel ekstrak dari penetrasi kelembapan udara. Serbuk kering yang dihasilkan harus memiliki kadar air di bawah lima persen guna menghentikan fasa degradasi enzimatis intraseluler. Aplikasi teknik pengeringan tersebut secara nyata mampu memperpanjang waktu paruh senyawa organosulfur volatil, sehingga stabilitas produk tetap terjaga selama masa penyimpanan. Fluktuasi tingkat keasaman atau pH lingkungan sediaan juga memegang kendali penuh terhadap ketahanan stabilitas kimia komponen aktif bawang putih. Enzim alinase yang mengatalisis pembentukan alisin dari aliin bersifat sangat sensitif terhadap paparan asam ekstrem dan panas tinggi. Jika sediaan oral konvensional bawang putih masuk ke dalam lambung, asam klorida lambung akan mendenaturasi struktur glikoprotein enzim alinase secara ireversibel. Denaturasi tersebut merusak sisi aktif enzim sehingga konversi lanjutan aliin menjadi senyawa alisin tidak terjadi. Dalam mengatasi

kendala fisiologis tersebut, maka perlu didesain sediaan tablet salut enterik yang tahan terhadap asam lambung namun larut sempurna di usus halus. Oksidasi yang dipicu oleh paparan oksigen atmosferik dan radiasi foton ultra violet menjadi tantangan stabilitas kimia tambahan yang destruktif. Gugus fungsi alil tak jenuh pada molekul organosulfur bawang putih sangat rentan mengalami autooksidasi jika terpapar udara luar secara kontinu. Proses oksidasi radikal tersebut merusak struktur kovalen rantai hidrokarbon alifatik, mengubah zat aktif antibakteri menjadi senyawa sulfur tereduksi yang inert. Masalah tersebut dapat diatasi melalui penambahan senyawa antioksidan eksogen sekunder seperti alfa-tokoferol atau asam askorbat ke dalam formula sediaan. Kehadiran antioksidan tersebut dapat berfungsi sebagai donor elektron yang menstabilkan radikal bebas sebelum merusak molekul utama bawang putih. Teknik pengemasan primer produk akhir juga memegang peranan krusial dalam mengisolasi sediaan farmasi dari pengaruh buruk faktor eksternal. Industri farmasi biasa menggunakan wadah botol kaca gelap atau kemasan lepuhan aluminium ganda untuk melindungi sediaan dari penetrasi cahaya. Radiasi foton cahaya matahari dapat mengeksitasi pasangan elektron bebas pada atom sulfur bawang putih, sehingga memicu pemutusan ikatan homolitik secara cepat. Selain perlindungan cahaya, kemasan kedap udara juga mencegah masuknya uap air lingkungan yang dapat memicu sifat higroskopis serbuk ekstrak. Karakteristik higroskopis serbuk etanolik bawang putih yang tinggi dapat menyebabkan sediaan menggumpal dan merubah konsistensi fisik produk. Penerapan teknologi analisis kromatografi cair kinerja tinggi kini memudahkan produsen untuk memantau stabilitas kimia secara kuantitatif. Pengujian stabilitas dipercepat dengan cara menempatkan produk formulasi bawang putih pada ruang uji dengan suhu dan kelembapan ekstrim yang terkontrol. Melalui pemantauan kadar senyawa penanda secara berkala, laju kinetika degradasi zat aktif dapat dihitung secara matematis. Data kuantitatif tersebut digunakan untuk memprediksi umur

simpan produk serta menentukan tanggal kedaluwarsa sediaan secara valid. Disiplin pengujian stabilitas yang ketat dapat menjadi prasyarat mutlak untuk menjamin bahwa konsumen selalu menerima produk dengan efikasi hambat yang konstan. Secara keseluruhan, analisis mendalam mengenai tantangan stabilitas organoleptik dan kimiawi menyajikan pemahaman logis mengenai kompleksitas hilirisasi riset bawang putih. Solusi berbasis teknologi modern seperti mikroenkapsulasi, salut enterik, dan penggunaan beta-siklodekstrin terbukti efektif mengatasi kelemahan fisikokimia ekstrak. Standardisasi senyawa penanda dilakukan untuk memastikan tidak ada praktik penurunan mutu atau pemalsuan produk di pasaran komersial. Keberhasilan mengatasi tantangan stabilitas tersebut mengangkat kredibilitas industri obat berbahan alam ke tingkat global sebanding dengan obat konvensional. Melalui komitmen kendali mutu yang disiplin, sediaan farmasi bawang putih siap diaplikasikan sebagai agen antibakteri yang presisi demi keberlanjutan kesehatan manusia.

D. Regulasi Standardisasi Ekstrak Bahan Alam di Indonesia

Regulasi standardisasi ekstrak bahan alam merupakan instrumen hukum dan ilmiah yang mutlak dipenuhi untuk menjamin bahwa produk obat herbal memiliki mutu, keamanan, dan kemanfaatan yang konsisten sebelum diedarkan di wilayah Indonesia. Indonesia memiliki kekayaan megabiodiversitas tanaman obat yang luar biasa, namun pemanfaatannya dalam sistem kesehatan modern menuntut adanya penyamaan parameter kualitas yang ketat. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia bertindak sebagai otoritas regulatori utama yang menetapkan acuan baku standardisasi melalui berbagai ketentuan formal dan monografi resmi. Tanpa ada kepatuhan terhadap regulasi tersebut, sediaan fitofarmaka berbahan dasar alam hanya akan dipandang sebagai ramuan tradisional tanpa kepastian dosis terapeutik yang terukur. Standardisasi memutus rantai variabilitas alami tanaman akibat

perbedaan geografis, iklim, dan cara budidaya dengan menetapkan batasan mutu yang rigid.

40 Berdasarkan regulasi nasional yang berlaku, produk obat bahan alam di Indonesia diklasifikasikan secara sistematis ke dalam tiga strata tingkatan, yaitu Jamu, Obat Herbal Terstandar (OHT), dan Fitofarmaka. Jamu menempati strata awal di mana klaim khasiat didasarkan pada data empiris turun-temurun dan pembuktiannya cukup melalui uji keamanan dasar. Strata kedua adalah OHT, yang menuntut sediaan herba tersebut telah melalui uji toksisitas dan uji efikasi secara praklinis pada hewan coba, serta bahan bakunya wajib berupa ekstrak yang telah terstandarisasi. Strata tertinggi dan paling prestisius adalah Fitofarmaka, yang menyaratkan produk telah melalui seluruh tahapan uji praklinis dan dilanjutkan dengan uji klinis fase lanjut pada manusia. Ekstrak etanol bawang putih yang diarahkan untuk menjadi agen antibakteri modern wajib melewati pemenuhan protokol OHT sebelum diakui efikasinya di fasilitas pelayanan kesehatan formal.

24 Proses standarisasi ekstrak bahan alam secara garis besar dibagi menjadi dua kelompok parameter utama, yaitu parameter spesifik dan parameter non-spesifik. Parameter spesifik berfokus pada aspek identitas dan karakteristik biokimia intrinsik yang melekat secara unik pada tanaman obat bersangkutan. Hal tersebut mencakup identitas botani yang jelas melalui surat determinasi resmi untuk menghindari pemalsuan atau kekeliruan spesies tanaman di industri. Organoleptik ekstrak berupa deskripsi konsistensi fisik, warna, bau tajam yang khas, dan rasa pedas yang menggigit perlu dipaparkan secara detail sebagai kontrol visual awal. Pemetaan parameter spesifik memastikan bahwa bahan baku yang masuk ke lini produksi pabrik farmasi murni berasal dari varietas *Allium sativum* yang valid.

Kuantifikasi kadar senyawa penanda (*marker*) merupakan inti dari pengujian parameter spesifik yang mengendalikan linearitas efikasi biomedis produk. BPOM menyaratkan industri untuk menetapkan kadar minimal dari metabolit sekunder aktif

35

yang bertanggung jawab atas aktivitas farmakologis obat. Dalam ekstrak etanol bawang putih, standardisasi diarahkan pada penentuan kadar senyawa organosulfur aliin atau alisin menggunakan instrumen kromatografi lapis tipis (KLT) Densitometri atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Kehadiran profil kromatogram yang seragam di setiap *bets* produksi menjamin keragaman kandungan antibakteri suatu bahan alam untuk digunakan dalam terapi. Kepatuhan pada standardisasi kimiawi dapat mengeliminasi risiko fluktuasi efikasi produk akibat perbedaan waktu panen atau lokasi lahan pertanian umbi. Di sisi lain, parameter non-spesifik berorientasi pada aspek keamanan lingkungan, higienitas proses ekstraksi, dan faktor kontaminan eksternal yang dapat membahayakan. Parameter tersebut menetapkan ambang batas maksimal yang sangat ketat terhadap kadar air sisa di dalam serbuk ekstrak kering. Kadar air yang melebihi ambang batas lima persen dilarang keras karena dapat memicu pertumbuhan kapang tersembunyi serta mengaktifkan enzim hidrolitik lokal yang merusak stabilitas zat aktif. Penentuan kadar abu total dan abu tidak larut asam juga diperlukan diperhatikan dalam mengukur tingkat kontaminasi silika, pasir, atau tanah akibat proses pencucian umbi yang kurang sempurna. Penetapan ambang batas parameter non-spesifik mampu meminimalisir masuknya materi inert berbahaya ke dalam formulasi akhir tablet atau kapsul. Pengujian kontaminan logam berat menjadi bagian yang tidak dapat ditawar dalam regulasi parameter non-spesifik demi mencegah efek toksisitas akumulatif pada organ saat digunakan dalam terapi. Batas cemaran logam berat merujuk pada ketentuan baku BPOM yang menetapkan kadar maksimal untuk unsur timbal, kadmium, merkuri, dan arsenik dalam satuan bagian per juta (ppm). Tanaman obat yang ditanam pada lahan yang tercemar limbah industri sering kali menyerap logam berat ke dalam jaringan umbinya secara pasif. Pengukuran menggunakan spektrofotometri serapan atom memastikan bahwa ekstrak bebas dari unsur racun tersebut. Regulasi ketat dapat melindungi sistem filtrasi ginjal dan hepatosit hati

51

konsumen dari ancaman gagal organ akibat konsumsi jangka panjang. Aspek mikrobiologis juga diatur secara rigid melalui penetapan batas maksimum angka lempeng total koloni bakteri pembentuk spora dan angka kapang khamir pada sediaan. Ekstrak etanol bawang putih yang sejatinya bersifat antibakteri tetap wajib bebas dari kontaminasi bakteri patogen spesifik seperti *Salmonella* spesies dan *Staphylococcus aureus*. Kehadiran spora mikroba luar di dalam kemasan dapat merusak konsistensi estetika produk serta memicu infeksi sekunder bagi pasien yang memiliki sistem imun lemah. Proses pengemasan primer di ruang steril berstandar industri farmasi menjadi solusi mutlak untuk memutus jalur kontaminasi udara. Kepatuhan mikrobiologis dapat memberikan jaminan mutlak bahwa sediaan herba aman dikonsumsi hingga batas tanggal kedaluwarsa yang tertera.

Regulasi di Indonesia juga melarang keras praktik pemalsuan obat bahan alam melalui penambahan Bahan Kimia Obat (BKO) sintetis ke dalam formula ekstrak. Beberapa oknum produsen nakal terkadang menambahkan antibiotik komersial ke dalam ramuan herbal untuk mendapatkan efek penyembuhan yang instan secara semu. BPOM melakukan pengawasan pasar secara berkala untuk mendeteksi keberadaan BKO terselubung dalam obat bahan alam menggunakan spektrofotometri dan kromatografi. Penambahan BKO tanpa takaran medis yang jelas sangat berbahaya karena dapat mempercepat laju krisis resistensi antimikroba di masyarakat serta memicu syok anafilaktik akut. Industri farmasi yang taat hukum wajib menyertakan sertifikat bebas BKO di setiap pengajuan izin edar produknya.

Penerapan Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB) menjadi pilar operasional industri farmasi untuk mengimplementasikan seluruh regulasi standarisasi di lapangan. CPOTB mengatur secara detail aspek kualifikasi personel laboratorium, sanitasi bangunan pabrik, standarisasi validasi metode analisis, hingga sistem dokumentasi *batch* produk yang transparan. Seluruh tahapan perlakuan dari

pemanenan umbi bawang putih, proses maserasi menggunakan pelarut etanol, hingga fasa pengeringan wajib tercatat dalam logbook industri yang sah. Audit berkala oleh inspektur BPOM memastikan bahwa standar operasional prosedur berjalan secara konsisten dan taat asas di setiap lini produksi. Sertifikasi CPOTB menjadi bukti sah bahwa industri memiliki komitmen mutu setara dengan industri farmasi konvensional. Secara keseluruhan, analisis mendalam mengenai regulasi standardisasi ekstrak bahan alam di Indonesia menyajikan peta jalan legalitas yang komprehensif bagi hilirisasi riset bawang putih. Harmonisasi antara parameter spesifik kimiawi marker dan parameter non-spesifik batas kontaminan melahirkan produk OHT maupun Fitofarmaka yang bermutu tinggi dan aman. Standardisasi yang disiplin diharapkan dapat menghilangkan keraguan komunitas medis konvensional terhadap efikasi sejati dari sediaan obat berbasis kekayaan alam lokal. Investigasi tata regulasi yang sistematis dan taat hukum memberikan kontribusi besar bagi penguatan kedaulatan kesehatan nasional. Penemuan dan penerapan regulasi yang ketat diharapkan mampu meluncurkan produk fitofarmaka bawang putih ke kancah perdagangan internasional secara terhormat.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhagyalakshmi N, Thimmaraju R, Venkatachalam L, Murthy KNC, Sreedhar R V. (2005). Nutraceutical Applications of Garlic. *Food Sci Nutr*. 45:607–621. doi:10.1080/10408390500455508.
- Chandra B. (2025). Potensi Bioaktif Daun Salak Pondoh (*Salacca zalacca*): Flavonoid, Tanin, dan Aktivitas Antibakteri. Thalibul Ilmi Publishing & Education.
- Firdausy AF. (2025). Monograf Bakteri Asam Laktat Versus Patogen: Tinjauan Potensi Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella pneumoniae*. Deepublish.
- Harlita, T. D. (2026). Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Herbal Alami untuk Melawan Infeksi. PT Cipta Digital Edukasi.
- Himaniarwati A. (2025). *Albizia saponaria*: Herbal Antimikroba Alami. PT Bukuloka Literasi Bangsa.
- Ismat, I., & Saputri, A. I. (2026). Buku Ajar Farmakologi Bahan Alam. Purwokerto: CV Eureka Media Aksara.
- KITOLOD, J. E. D. D. B. Karakterisasi dan Uji Antibakteri.
- Komari N. (2025). Jejak Bioaktif Tropis: Potensi Farmakologi Tanaman Endemik Kalimantan. Banjarmasin: ULM Press.
- Kusuma, I. M. Bukti Penelitian Buku 2.
- Ma'arif QF. (2024). Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun anting-anting (*Acalypha indica* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* (*Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Muchtaromah B. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak air *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val., dan *Acorus calamus* L. terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

- Mustariani BAA. (2023). Ragam Bioaktivitas Kombinasi Tanaman Kelor: Ekstraksi, Fitokimia, dan Antibakterinya. Samudra Biru.
- Mustika M, & Haris M. (2025). Ekstrak Daun Tin: Kajian Standardisasi dan Profil Ficusin. Thalibul Ilmi Publishing & Education.
- Rahmah, R. A. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Polar, Semipolar dan Nonpolar Ekstrak Etanolik Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro* dan *In Silico* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta).
- Rahmawati F, Bintang M, Yang AJ, Lagho SSU. (2024). Bioaktivitas Krokot (*Portulaca grandiflora* Hook) Asal Ngada Nusa Tenggara secara *In Vitro*. HERCLIPS. 06 (01):51-59.
- Rahmawati F. Bintang M, Yang AJ, Damayanti NMD. (2024). Potensi Antioksidan, Skrining dan Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L. Indica). *Jurnal Pro-Life*. 11(2): 129-141.
- Rahmawati LA. (2015). Potensi Kombinasi Ekstrak Air dari *Curcuma mangga* Val., *Acorus calamus* L., dan *Allium sativum* Linn. terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi *Candida albicans* secara *In Vitro* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Saidi IA, Azara R, & Yanti E. (2022). Nutrisi dan Komponen Bioaktif pada Sayuran Daun. Umsida Press, 1-140.
- Sofa N. (2025). Uji Antibakteri Kombinasi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanii*, Nees & T. Nees) terhadap *Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

- Sulastri, L., Farm, M., Tulandi, S. M., Farm, S., Handayani, M. T. R., Farm, M., ... & Farm, M. (2025). Biopotensi Nusantara: Eksplorasi Bahan Alam dalam Sains dan Teknologi Farmasi. PT Bukuloka Literasi Bangsa.
- Sulistiyorini, A. (2015). Potensi Antioksidan dan Antijamur Ekstrak Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) dalam Beberapa Pelarut Organik (*Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Taufiq, Z. (2026). Gambir Gum Sebagai Antimikroba Alami dalam Kesehatan Oral. Deepublish.
- Usman, W. F., Silvyana, A. E., Sari, D. R. A. P., Gurning, K., Triadisti, N., Eriadi, A., ... & Hesturini, R. J. (2026). Fitokimia: Teori dan Esensinya. CV Get Press Indonesia.

TENTANG PENULIS



Fri Rahmawati, S.Si., M.Si. adalah seorang akademisi, peneliti, dan dosen tetap pada Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia (FK UKI), Jakarta. Beliau menyelesaikan pendidikan Sarjana (S.Si.) dan Magister (M.Si.) di bidang Biokimia dari Institut Pertanian Bogor (IPB *University*). Saat ini, beliau memegang jabatan fungsional Lektor dan aktif mengajar berbagai mata kuliah biokimia medis dan kedokteran dasar. Sebagai seorang peneliti, fokus riset beliau berpusat pada bidang Biokimia Fisik, Biokimia Kedokteran, dan Eksplorasi Potensi Bahan Alam (*Herbal Medicine*). Penulis telah mempublikasikan berbagai artikel ilmiah di jurnal nasional maupun internasional, serta aktif sebagai pembicara dalam pertemuan ilmiah yang diadakan oleh perguruan tinggi maupun perkumpulan peneliti. Penulis dapat di hubungi melalui email: fri.rahmawati@uki.ac.id.



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan	: EC002026189920, 2 Oktober 2026
Pencipta	
Nama	: Fri Rahmawati, S. Si, M. Si.
Alamat	: Jl. Margonda Raya, Komplek Depok Indah, RT. 004, RW. 017 Kelurahan Kemirimuka, Beji, Kota Depok, Jawa Barat
Kewarganegaraan	: Indonesia
Pemegang Hak Cipta	
Nama	: Fri Rahmawati, S. Si, M. Si.
Alamat	: Jl. Margonda Raya, Komplek Depok Indah, RT. 004, RW. 017 Kelurahan Kemirimuka, Beji, Kota Depok, Jawa Barat
Kewarganegaraan	: Indonesia
Jenis Ciptaan	: Buku
Judul Ciptaan	: Biokimia Bawang Putih: Eksplorasi Senyawa Bioaktif dan Mekanisme Antibakteri Pelarut Etanol
Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia	: 16 September 2026, di Kab. Purbalinga
Jangka waktu perlindungan	: Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.
Nomor Pencatatan	: 001522876

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.
Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



a.n. MENTERI HUKUM
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL



Dr. Hermansyah Siregar, S.H., M.H.
NIP. 197010161992031001

Disclaimer:

1. Dalam hal pemohon memberikan keterangan tidak sesuai dengan surat pernyataan, Menteri berwenang untuk mencabut surat pencatatan permohonan.
2. Surat Pencatatan ini telah diiseg secara elektronik menggunakan segel elektronik yang diterbitkan oleh Balai Besar Sertifikasi Elektronik, Badan Siber dan Sandi Negara.
3. Surat Pencatatan ini dapat dibuktikan keasliannya dengan memindai kode QR pada dokumen ini dan informasi akan ditampilkan dalam browser.