

**SYNTHESIS OF ANTIBACTERIAL CREAM BASED ON
Allium sativum AS TOPICAL DELIVERY**

- 1. Fany Henika, B.Sc (Hons)**
- 2. Dr Rozida Khalid**

- 1. Master student of National University Malaysia*
- 2. Lecturer at Faculty of Science and Technology of National University Malaysia*

ABSTRACT

This study was conducted to produce a topical delivery system which has an active ingredient which can be used for treatment of skin diseases such as acne and common skin disease. In this study, four cream formulation were prepared. Three of four cream formulations contained *Allium sativum* extract 0.35%, 0.5% and 0.65%. Infrared spectroscopic analysis was performed on four samples of different extracts of *Allium sativum*. In addition, *Allium sativum* extract and four samples of different creams have alsodone testing for antibacterial activity. In this study, *Stihaphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were used as microorganism. The Results showed that samples of fresh methanol extract *Allium sativum* provide better antibacterial activity compared to the three other samples. Four samples of cream with different percentage of active ingredients showed have no antibacterial effect after antibacterial activity testing been done. However, in terms of quality, the samples of the cream produced a good quality, based on the value of pH, viscosity and stability for 3 weeks of storage.

PENDAHULUAN

Sejak abad ke 19, rawatan terhadap penyakit boleh dilakukan dengan pelbagai jenis penghantaran ubat, salah satunya ialah penghantaran topikal. Penghantaran topikal ditakrifkan sebagai penghantaran bahan aktif terhadap kulit yang mengandungi formulasi farmaseutikal untuk merawat kerosakan kulit (seperti jerawat) atau penyakit kulit umum (seperti *psoriasis*). Ubat antibakteria yang mengandungi bahan kimia (bahan pengawet) selain boleh memberikan kesan sampingan juga memiliki harga yang tinggi. Ubat antibakteria boleh dihasilkan dalam pelbagai jenis dan faedah. Penghantaran topikal merupakan salah satu bentuk atau cara ubat antibakteria boleh digunakan kepada badan manusia.

Kajian yang hendak dijalankan melibatkan penggunaan ekstrak akues bawang putih yang mempunyai pelbagai bahan aktif yang mana memiliki sifat antibakteria. Sebatian yang terhasil daripada proses pengekstrakkan tersebut, seterusnya dimasukkan ke dalam emulsi berupa krim yang akan digunakan sebagai penghantaran topikal, dan akhir sekali dilakukan lagi uji antibakteria daripada krim yang telah mengandungi bahan aktif.

Kajian penyelidikan ini dilakukan bagi mencapai tiga objektif utama, iaitu:

1. Mendapatkan ekstrak akues bawang putih yang mengandungi pelbagai bahan aktif dan melakukan pengujian antibakteria terhadap beberapa spesies bakteria
2. Menghasilkan bahan pengantar berbentuk sapuan yang mengandungi ekstrak bawang putih sebagai antibakteria

KAJIAN KEPUSTAKAAN

Bawang putih

Bawang putih (*Allium Sativum*) merupakan tumbuhan yang boleh dimakan yang mana telah banyak menjana banyak manfaat sebagai penawar perubatan. Pelbagai mikroorganisma termasuk bakteria, kulat, protozoa dan virus telah terbukti peka terhadap bawang putih yang telah dihancurkan. Selain itu, *Allium sativum* dilaporkan dapat mengurangkan lipid darah dan mempunyai kesan anti-kanser. Analisis kimia terhadap ulas bawang putih telah menunjukkan kepekatan yang tidak biasa daripada sebatian yang mengandungi sulfur (1-3%) (Darbyshire et al. 1981; Koch et al. 1996).

Pengemulsi

Pengemulsi adalah bahan aktif permukaan yang bertindak mengurangkan tegangan pada permukaan. Ia mempunyai bahagian hujung molekul yang berbeza, satu bahagian suka pada air iaitu larut dalam air (hidrofilik) dan satu bahagian lagi suka pada minyak iaitu larut dalam minyak (lipofilik). Ia akan mengelilingi dan menutup lapisan permukaan titisan minyak dalam sistem emulsi minyak dalam air dan akan menebat titisan minyak tersebut daripada fasa air secara efektif sehingga akan menyebabkan titisan-titisan minyak tadi terus tersebar dalam emulsi dan akan mengelakkan titisan tersebut melakukan proses tautan (*coalescence*) antara satu sama lain dan seterusnya membentuk lapisan minyak dalam fasa air.

Krim

Krim merupakan medium kosmetik yang disapu pada permukaan kulit untuk memberikan fungsi pelembab, melembutkan kulit dan pelbagai kegunaan lainnya. Ia terdiri daripada dua fasa yang tidak terlarut campur iaitu minyak dan air. Dalam hal ini, satu cecair tersebar dalam bentuk globul finit dalam fasa penyebar. Apabila kedua fasa diadun, emulsi sementara terhasil. Tetapi emulsi akan terpisah semula disebabkan tekanan antara muka yang tinggi dalam kedua fasa ini.

Minyak Sawit

Buah kelapa sawit menghasilkan dua jenis minyak iaitu minyak isirong sawit (PKO) yang diekstrak dari kernel buah sawit dan minyak mesokap sawit (PO) yang diperoleh melalui pengekstrakan minyak dari sabut buah sawit. Sabut buah sawit mampu menyumbang sehingga 50% minyak dari keseluruhan buah sawit. PKO berbeza dari PO dari segi komposisi asid lemak yang wujud di dalamnya secara semulajadi. PKO mengandungi kira-kira 40% hingga 52% asid laurik (C12:0) dan 14% hingga 18% asid miristik (C14:0) manakala PO mengandungi 32% hingga 47% asid palmitik (C16:0) dan 40% hingga 52% asid oleik (C18:0) yang terester pada molekul gliserol membentuk molekul triasilgliserol (TAG) (Formo et al. 1979).

Minyak zaitun

Minyak zaitun diperoleh melalui pengekstrakan minyak dari buah *Olea europaea* yang masak (Anon 1997e). Minyak zaitun mengandungi kira-kira 10% hingga 12% asid lemak tepu yang kebanyakannya adalah asid palmitik (C16:0), manakala kandungan asid lemak tak tepu adalah 88% hingga 90% dengan komposisi asid oleik paling tinggi (O'Brien 200). Penggunaan minyak zaitun dalam bidang kosmetik telah bermula sejak zaman purba Mesir, Yunani dan Rom lagi. Dalam kebanyakan produk kosmetik, minyak zaitun digunakan sebagai pelembab selain berfungsi sebagai asas untuk proses merawat kulit yang sensitif.

Lemak koko

Lemak koko merupakan pepejal berwarna kuning pucat yang mempunyai bau seperti coklat dan rasa yang sungguh menyenangkan. Lemak koko diperoleh dari sejenis tumbuhan tropika, *Theobroma cacao* melalui kaedah pengekstrakan. Kira-kira 50% hingga 55% lemak terkandung dalam kerel biji koko. Selain dari industri konfeksi dan penyalutan, industri kosmetik juga banyak mengaplikasikan lemak koko dalam pembangunan produknya. Lemak koko yang diaplikasikan dalam pelbagai jenis losyen dan krim bertindak memekatkan tekstur produk-produk berkenaan.

Boraks (Dinatrium tetraboat)

Boraks merupakan sejenis alkali yang diperoleh dari sumber mineral galian di kawasan utara dan selatan Afrika. Ia adalah sebatian kimia dari kelas karbonat yang dibina dari komponen natrium, boron, oksigen dan air. Selain bertindak sebagai pelembut-air, boraks juga digunakan sebagai pengemulsi yang baik dalam penghasilan produk kosmetik seperti losyen dan krim. Penggunaan boraks dalam formulasi akan menghasilkan produk losyen badan yang mempunyai tekstur lebih

mudah disapu. Walaupun boraks berperan penting dalam menghasilkan tekstur krim yang lembut, namun pengaplikasian boraks yang berlebihan dalam produk kosmetik mampu memberi kesan iritasi yang teruk pada kulit kerana boraks mempunyai julat pH 9 hingga pH 11.

Lilin lebah

Lilin lebah juga digunakan sebagai agen pengemulsi dan agen pemekat dalam kebanyakan produk kosmetik. Ia mengandungi kira-kira 71% ester asid lemak yang kebanyakannya diterbitkan dari asid palmitik dan asid 15-hidroksipalmitik manakala 12% adalah asid bebas (*cerolein*). Lebih daripada 23% adalah monoester dari jenis miristol palmitat. Meskipun lilin lebah bertindak sebagai agen pemekat terbaik tapi sifat mengemulsi lilin lebah adalah sangat rendah. Jadi, bagi mengatasi masalah ini, penambahan boraks adalah perlu. Ini kerana, penambahan boraks akan mendorong kepada peningkatan sifat mengemulsi lilin lebah yang stabil. Kombinasi antara lilin lebah dan boraks juga akan menghasilkan satu bentuk emulsi yang lembut dan homogenus. Selain itu, percampuran lilin lebah dengan minyak tumbuhan terutamanya minyak zaitun akan menghasilkan satu campuran pes yang sangat lembut dan mempunyai tahap kefungsiian melindungi kulit yang tinggi.

KAEDAH PENYELIDIKAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penyelidikan ini adalah: bikar 25 mL, 50 mL, 100 mL dan 500mL, spatula besi, rod kaca, pipet 10mL, 25mL dan 50mL, getah, kertas aluminium, botol sampel kaca 10 mL dan penutup, silinder penyukat 5 mL, 10 mL dan 100 mL, tiub emparan, penitis, kelalang 100 mL dan 250 mL, piring petri, pengacau magnet

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penyelidikan ini adalah: 1kg bawang putih, minyak zaitun, minyak sawit, lemak koko, lilin lebah, boraks, lesitin dan asid sitrik, Air Suling (H₂O), Asid Oleik, Tween 80, Propylene Glycol, Dimethyl Sulfoxide, Nutrien agar, Metanol.

Mikroorganisma yang digunakan dalam penyelidikan ini adalah: *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Instrumentasi

Instrumentasi yang digunakan dalam penyelidikan ini adalah Spektroskopi Resonan Magnetik Nukleus (NMR), Spektroskopi Inframerah Pengubah Fourier (FT-IR), Penyerakan Cahaya Dinamik (DLS) berjenama Malvern model Zen 3600, alat pengempar berjenama Kubota model 2420, Freeze dryer berjenama Christ model alpha 1-4 LD, Rotary evaporator berjenama Heldolph model laborota 4011 digital, penimbang analitikal, pH meter, viskometer, mesin pencampur, mesin autoklaf, ketuhar, pemanas pengacau magnet dan penggongcang inkubator berjenama Eyela model FMC-100.

Kaedah Penyelidikan

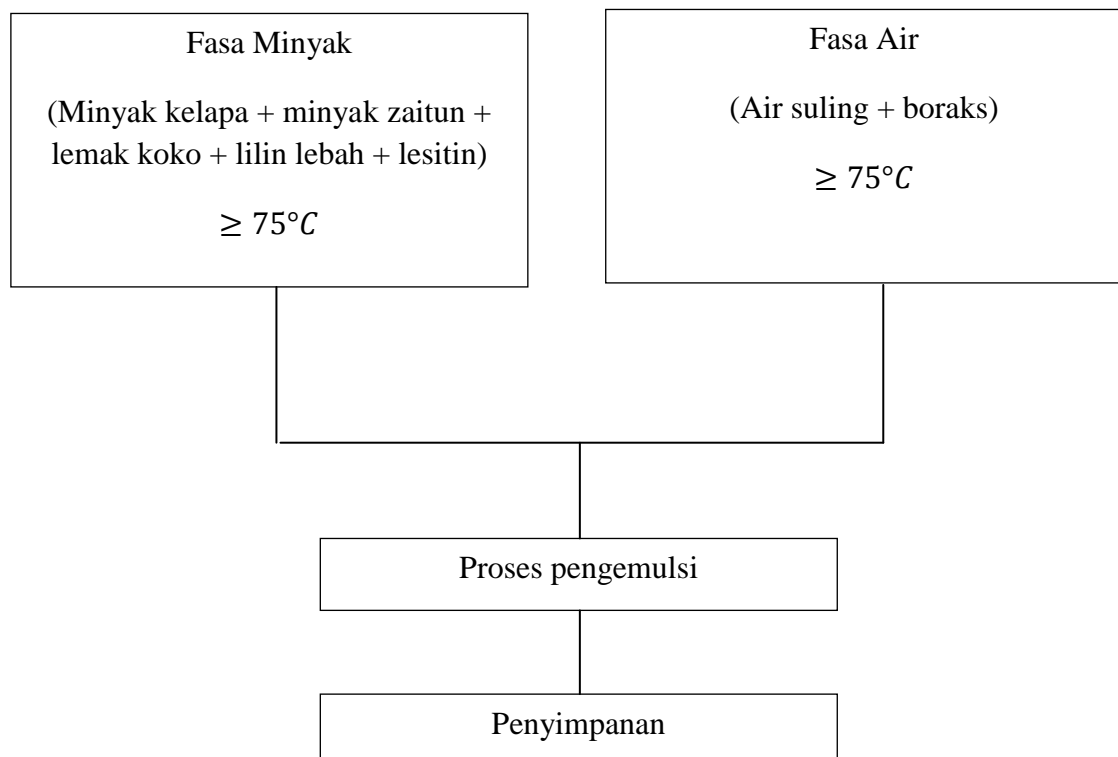
Ekstrak akues *Allium sativum*

Ekstrak akues bawang putih disediakan dalam bentuk infusi dengan menggunakan kaedah infusi air. Dalam kajian ini air suling digunakan sebagai medium infusi air. Beberapa siung bawang putih segar dicuci, dikupas, dan diiris, kemudian ianya dikeringkan dengan sinar matahari selama 7 hari. Setelah pengeringan, bawang putih diiris dan dikisar menjadi serbuk halus dengan blender listrik. 10 gr serbuk bawang putih akan direndam di dalam 100 ml air suling (H_2O). Kelalang akan dibiarkan pada suhu bilik selama 72 jam dan diguncang pada halaju 120 rpm. Ekstrak mentah diempar pada 3000 rpm selama 10 minit pada suhu $25^{\circ}C$. Ekstrak seterusnya diuapkan pada suhu $80^{\circ}C$ dalam penyejat putar. Tahap selanjutnya, ekstrak dikeringkan dengan menggunakan freeze dryer selama 1 hari. Ekstrak akues bawang putih yang telah dikeringkan dilarutkan dalam air suling dengan konsentrasi akhir 100 mg/ml. Diempar kembali pada 10,000 rpm untuk menghilangkan sisa yang tak larut. Larutan ekstrak disimpan pada suhu $4^{\circ}C$.

Ekstrak metanol *Allium sativum*

Ekstrak metanol bawang putih disediakan dalam bentuk infusi dengan menggunakan kaedah infusi metanol. 5g bawang putih dihancurkan dalam 6ml campuran daripada air suling dan metanol (1:1 v/v), kemudian di empar pada halaju 3000 rpm selama 30 minit. Ekstrak seterusnya dituras menggunakan kertas turas.

Penyediaan krim dengan ekstrak *Allium sativum*



Rajah 1. Proses skematik penyediaan krim asas

PENCIRIAN FIZIKAL – KIMIA

Pencirian Ekstrak Akues *Allium sativum* Menggunakan Spektroskopi Inframerah (FT-IR)

Teknik spektroskopi inframerah digunakan untuk menentukan kehadiran kumpulan berfungsi utama yang hadir di dalam sesuatu sebatian. Data yang diperolehi ialah dalam bentuk spektrum dengan puncak-puncak tertentu. Puncak-puncak pada spektrum sampel akan memberikan maklumat mengenai kumpulan berfungsi yang hadir di dalam sebatian. Sampel ekstrak yang hendak dianalisis perlu berada dalam bentuk cecair. Ekstrak akues yang telah dikeringkan dilarutkan dalam pelarut dimethyl sulfoxide.

Pencirian Ekstrak Akues *Allium sativum* Menggunakan Spektroskopi Resonan Magnetik Nukleus (NMR)

NMR merupakan teknik spektroskopi yang bergantung kepada sifat magnetik pada atom nukleus. Apabila diletakkan pada kawasan medan magnet yang tinggi, sesetengah nukleus akan bergetar pada frekuensi tertentu. Didalam kajian ini, analisis NMR dijalankan untuk menentukan struktur-struktur sebatian yang dijangkakan terhasil dari pengekstraksan akues *Allium sativum* menggunakan NMR 400 Hz.

Pengujian Antibakteria pada Ekstrak *Allium sativum*

Uji antibakteria dilakukan dengan kaedah penyebaran cakera (*Disc diffusion*). Semua eksperimen dilakukan di bawah keadaan steril. Plat agar nutrien disuntik berasingan dengan 10^7 CFU pada setiap bakteria yang akan diuji dan sekata tersebar di seluruh permukaan setiap plat. Cakera steril (5 mm) dicelupkan secara aseptik dalam ekstrak akues *Allium sativum* selama satu minit dan diletakkan di atas plat agar nutrien yang telah dibenihkan bakteria. Plat dibiarkan pada suhu ambien selama 15 minit dan kemudian dieram pada 37°C selama 16 jam dan diperhatikan bagi zon perencatan. Diameter zon perencatan diukur dalam milimeters. Uji antimikrob dilakukan dalam tiga salinan untuk setiap bakteria.

Penentuan nilai pH krim

Nilai pH produk ditentukan dengan menggunakan pH meter elektronik. Analisis dilakukan terhadap 4 sampel krim yang berbeza.

Penentuan kelikatan krim

Produk ditentukan darjah kelikatannya dengan menggunakan Viskometer *Brookfield*. Analisis dijalankan terhadap 4 sampel krim yang berbeza.

Ujian kestabilan fizikal krim

Sampel-sampel krim dimasukkan ke dalam botol sampel kaca dan ditutup dengan penutup. Sampel-sampel krim didedahkan pada keadaan suhu yang berbeza iaitu dalam peti sejuk pada sekitar suhu 4°C hingga 5°C , dalam ketuhar 45°C hingga 46°C dan pada suhu bilik iaitu dalam julat 25°C hingga 27°C . Ujian ini mengambil masa 3 minggu atau 21 hari. Pemerhatian direkodkan.

HASIL DAN PERBINCANGAN

Pengecaman Kumpulan Berfungsi pada *Allium sativum*

Sifat kimia dari spesies *Allium* telah didominasi oleh sebatian yang banyak mengandungi sulfur, dimana memberikan ciri rasa terhadap bawang putih. Walau bagaimanapun, pelbagai komponen, termasuk sebatian bukan sulfur, bekerja secara sinergistik untuk menyediakan pelbagai kesihatan. Oleh sebab itu, komponen bahan aktif yang terdapat di dalam bawang putih, boleh dikesan melalui sebatian organosulfur, iaitu sebatian organik yang mengandungi sulfur. Spektrum IR daripada sampel ekstrak akues bawang putih yang telah dikeringkan dengan freeze dryer dan dicairkan menggunakan DMSO, memberikan spektrum IR yang sangat baik. Spektrum IR dari sampel ini menunjukkan kehadiran CH_3 serapan antara $3100\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$, S-C serapan antara $800\text{-}700\text{ cm}^{-1}$, kehadiran ikatan S-S pada puncak antara $500\text{-}400\text{ cm}^{-1}$, Sulfone $\text{-(SO}_2\text{)-}$ serapan antara $1350\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$, C=C serapan antara $1680\text{-}1625\text{ cm}^{-1}$.

Pencirian oleh Magnetik Nuklear Resonans (NMR)

Berdasarkan spektrum NMR yang diperolehi, tidak menunjukkan kehadiran sebatian sulfur. Hal ini dijangkakan pelarut yang digunakan tidak sesuai dengan ekstrak *Allium sativum*, kerana ekstrak yang telah dikeringkan hanya separa larut dalam pelarut DMSO. Beberapa puncak yang berbeza memberikan maklumat jenis-jenis proton yang berbeza dalam sampel ekstrak *Allium sativum*. Puncak proton (^1H) pada nombor puncak ke 1, puncak ini mewakili kumpulan amina (NH_2) yang terletak pada anjakan 2.37 ppm . Sedangkan puncak ke 3 dan ke 4 mewakili rantai alipatik, dapat dijumpai pada anjakan 2.71 dan 3.67 ppm . Dan puncak ke 2 merupakan puncak tertinggi yang menunjukkan bahawa kandungan DMSO pada sampel ekstrak adalah banyak.

Penilaian aktiviti antibakteria pada ekstrak *Allium sativum*

Penilaian aktiviti antibakteria dijalankan dengan kaedah peresapan-cakera. Tiga sampel ekstrak yang diuji terhadap aktiviti antibakteria memiliki diameter zon perencatan yang berbeza, hal ini mungkin dipengaruhi oleh kaedah pengekstrakan yang dilakukan dan jangka masa penyimpanan ekstrak sebelum digunakan dalam uji antibakteria.

Penilaian aktiviti antibakteria pada krim

Ke empat sampel krim yang telah dilakukan pengujian antibakteria terhadap dua bakteria *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tidak menunjukkan aktiviti antibakteria. Diameter zon perencatan dari ke empat sampel ialah 0 cm . Hal ini mungkin dipengaruhi oleh jumlah peratus bahan aktif yang digunakan atau kualiti bahan aktif yang digunakan sama ada bahan aktif yang digunakan sudah tidak memiliki aktiviti antibakteria atau bahan aktif tersebut telah terdegradasi ke sebatian lain.

Penentuan Nilai pH Krim

Setiap krim perlu mempunyai pH antara 5.0 hingga 6.0 . ini merupakan nilai pH neutral pada kulit. Produk tidak boleh terlalu berasid kerana akan cepat merosakkan produk. Sebaliknya pula, jika produk terlalu beralkali akan menyebabkan kulit menjadi kering.

Jadual 1. Nilai pH Krim

Sampel	pH
Krim asas	5.8
Krim 0.35%	6.0
Krim 0.5%	6.8
Krim 0.65%	5.4

Penentuan Kelikatan Krim

Jadual 2. Keputusan Krim bagi Ujian Kelikatan

Sampel	Nilai Kelikatan krim	Lampiran No
Krim asas	229.50	F
Krim 0.35%	60.85	G
Krim 0.5%	35.40	H
Krim 0.65%	106.95	I

Melalui keputusan didapati, bahawa jumlah ekstrak *Allium sativum* yang digunakan secara jelas mempengaruhi kelikatan yang dihasilkan. Perubahan kelikatan pada krim menunjukkan kepada perubahan saiz titisan taburan, sehingga mempengaruhi perubahan struktur krim tersebut.

Ujian kestabilan krim pada suhu bilik

Melalui pemerhatian terhadap ujian kestabilan yang dijalankan pada suhu bilik (27°C), krim ini secara keseluruhannya stabil pada suhu bilik. Warna krim juga tidak menunjukkan sebarang perubahan ketika ujian kestabilan suhu bilik dilakukan. Juga dari segi bau, krim yang terhasil tidak menunjukkan sebarang bau yang menunjukkan krim berkenaan mengalami perubahan. Pada hari pertama hingga terakhir ujian, warna dan bau tidak menunjukkan sebarang perubahan selain warna dan bau asalnya yang menyerupai bau asas krim berkenaan seperti bau minyak kelapa dan lemak koko.

Ujian kestabilan pada suhu panas

Ujian kestabilan yang dijalankan pada suhu panas dilakukan dalam ketuhar. Ujian ini dijalankan lebih 3 minggu pada suhu sekita 44 - 47 °C. Pada minggu pertama, secara keseluruhannya krim adalah stabil. Jika adapun, hanya sebilangan kecil sampel yang

berlaku sedikit pemisahan fasa kerana ia diletakkan pada suhu panas. Kestabilan krim-krim ini disokong pula dengan tiadanya sebarang perubahan warna yang berlaku terhadap krim. Pada minggu kedua, krim masih lagi dalam keadaan stabil tetapi ada sebilangan kecil yang berubah dengan terdapatnya pemisahan fasa yang berlaku, namun tidak berlaku perubahan pada warna. Sehingga pada minggu terakhir, kebanyakan sampel masih lagi berada dalam keadaan stabil. Tetapi terdapat juga sampel yang berlaku pemisahan fasa dan perubahan tekstur. Walaubagaimanapun, sampel krim tidak mengalami perubahan dari segi warna dan bau.

Ujian kestabilan pada suhu sejuk

Ujian kestabilan yang dilakukan pada suhu sejuk menggunakan peti sejuk pada suhu 4-5°C. Didapati krim yang diletakkan dalam keadaan sejuk ini stabil dalam erti kata tiada pemisahan fasa yang dapat dilihat antara fasa minyak dan fasa air. Warna krim tidak mengalami sebarang perubahan apabila ia dibiarkan dalam jangka masa lebih 3 minggu. Krim juga didapati tidak mengandungi sebarang gelembung udara di dalam atau di atas lapisan krim tersebut. Semua gelembung udara yang terbentuk ini tidak mengganggu kestabilan emulsi dan ia berpunca daripada kemasukan unsur oksigen semasa proses pencampuran minyak.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Penghasilan krim yang mengandungi antibakteria daripada *Allium sativum* tidak berjaya dilakukan. Walaubagaimanapun, ekstrak *Allium sativum* memiliki aktiviti antibakteria terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bawang putih yang dihancurkan dalam medium pelarut telah menunjukkan kesan aktiviti antibakteria yang baik berbanding bawang putih yang dipotong dan dihancurkan tanpa medium pelarut. Kehadiran kumpulan berfungsi yang terdapat dalam ekstrak *Allium sativum* telah dikenalpasti menggunakan spektroskopi inframerah transformasi fourier (FTIR). Empat jenis krim dengan peratus bahan aktif yang berbeza telah dihasilkan. Krim dengan 0.35% bahan aktif dan krim dengan 0.5% bahan aktif adalah krim yang paling baik kualitinya berbanding dua jenis krim lainnya. Kualiti kedua krim tersebut dapat dinilai berdasarkan nilai pH, kelikatan dan kestabilan pada suhu bilik, panas dan sejuk.

Saran

Kualiti ekstrak *Allium sativum* sangat berpengaruh bagi menghasilkan krim yang mengandungi antibakteria. Oleh sebab itu, kualiti ekstrak perlu dipastikan dan dijaga sebelum digunakan dalam krim. Ekstrak *Allium sativum* memiliki bahan aktif yang sangat reaktif seperti tiosulfinat, dengan demikian pemprosesan penghasilan ekstrak harus berhati-hati agar sebatian yang ada tidak hilang atau bertukar kepada sebatian lain. Bawang putih yang dihancurkan dalam medium pelarut menunjukkan kesan aktiviti antibakteria yang baik berbanding bawang putih yang dipotong dan dihancurkan tanpa medium pelarut. Jadi, kajian lanjutan untuk menghasilkan ekstrak *Allium sativum* yang baik ialah perlu dilakukan dalam medium pelarut, dan pelarut yang sesuai ialah metanol.

RUJUKAN

- Albert, J., Richard, J.H. & Hamm, W. 2007. *Trans Fatty Acids*. Wiley-Blackwell
- Block, E. 1985. The Chemistry of Garlic and Onion. *Sc. Am* 252: 94-99.
- Celiini, L., Di Campli, B., Masulli, M., Di Bartolomeo, S. & Aliocati, N., 1996. Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immenol. Med. Micrbiol* 13: 273-277
- Darbyshire, B. & Henry R.J. 1981. Differences in fructan content and synthesis in some *Allium* species. *New Phytol.* 87: 249-256
- Fujiwara, M., Yishimura, M., Tsuno, S. & Murakami, F. 1958. "Allithiamine," a newly found derivative of vitamin B1. IV. on the alliin homologues in the vegetables. *J Biochem* (Tokyo) 45:141-149
- Holzgartner, H., Schmidt, U. & Kuhn, U. 1992. Congress Abstract Eur Jnl Clin Res 3A: 8
- Koch, H.P. & Lawson, L.D. 1996. Garlic, the science and therapeutic application of *Allium sativum* L. and related species, in: Retford D.C. (Ed.). Baltimore: Williams and Wilkins.
- Moore, K.M. & Knauff, D.A. 1989. The inheritance of high oleic acid in peanut. *J. Hered.* 80:252-253.
- Rabinkov, A., Xiao-Zhu, Z., Grafl, G., Galili, G. & Mirelman, D. 1994. Alum lyase (alliinase) from garlic (*Allium sativum*). *Biochemical characterization and cDNA cloning, Appl. Biochem. Biotechnol.* 48: 149-171.
- Teixeira, P. C., Leite, G. M., Domingues, R. J., Silva, J., Gibbs, P. A. & Ferreira, J. P. Antimicrobial Effects of a Microemulsion and a Nanoemulsion on Enteric and Other Pathogens and Biofilms. 15-19.
- Yu, T.H., & Wu, C.M. 1989. Stability of allicin in garlic juice. *Journal Food Science* 54(4): 977-981.
- Zhu, W., Yu, A., Weihongwang, Dong, R., Junwu & Zhai, G. 2008. Formulation Design of Microemulsion for Dermal Delivery of Penciclovir. *International Journal of Pharmaceutics* 360: 184-190.