

**HISTOLOGI LIVER BURUNG PUYUH DENGAN PEMBERIAN
MINYAK ATSIRI BAWANG PUTIH**
(Liver Histologic of Quail with Administration of Garlic Volatile Oil)

Andi Mushawwir, An An Yulianti dan Nono Suwarno

Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran
Kampus Jatinangor, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km. 21
Jatinangor, Sumedang Jawa Barat 45363
Email: mushawwir@unpad.ac.id.

ABSTRACT

Sixty-four of female quails, twenty-two weeks old, were used in the current study to evaluate the potential of volatile oil from garlic extract in improving histological liver of the quails. Volatile oil isolated from garlic by using destilated technique. This study was designed according to completely randomized design, consisted of four treatment groups and six replications. Each treatment group consisted of 16 quails, with supplemental volatile oil (VO) by orally, as follow L0=without of VO; L1= VO of 75 μ L; L2= VO of 100 μ L and L3= VO of 125 μ L. Liver tissue samples were collected using a fixative solution and the liver samples were used to determine the liver histological parameters (necrosis, apoptosis, fat degeneration, hydropic degeneration, acute inflammation, hemorrhagic) by a Mallory-asan technique dan binocular microscope. The current study showed that overall results indicated a significant treatment effect ($P<0,05$) for the liver histological condition. In conclusion, VO resulted in supplemented levels that significantly raised protein and lipid anabolic and induced hormone signal related growth liver tissue

Key words: Volatile oil; histological, liver, quail

ABSTRAK

Enam puluh empat ekor puyuh berjenis kelamin betina, berumur 22 minggu telah digunakan dalam penelitian ini untuk mengkaji pengaruh pemberian minyak atsiri terhadap kondisi histologi liver puyuh. Minyak atsiri dari bawang putih telah diisolasi dengan teknik destilasi. Percobaan ini dirancang dengan rancangan acak lengkap dengan empat kelompok percobaan dan enam kali ulangan, masing-masing kelompok terdiri dari 16 ekor puyuh, dengan level pemberian minyak atsiri L0 (tanpa minyak atsiri); L1 (75 μ L/ekor); L2 (100 μ L/ekor) dan L3 (125 μ L/ekor). Perlakuan telah diberikan dengan cara dicekok. Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada akhir penelitian dengan menggunakan larutan fiksatif dan pembuatan preparat jaringan, untuk memeriksa parameter-parameter histologi liver (nekrosis, apoptosis, degenerasi lemak, degenerasi hidrofik, inflamasi dan hemoragik) dilakukan dengan teknik Mallory-Asan dan dianalisis menggunakan mikroskop binokuler. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa secara keseluruhan, minyak atsiri mempengaruhi ($P<0,05$) kondisi histologi liver puyuh. Disimpulkan bahwa minyak atsiri mampu menstimulasi anabolisme protein dan lipid, juga signal hormonal terkait dengan pertumbuhan liver.

Kata kunci: Atsiri; histologik, liver, puyuh

PENDAHULUAN

Ternak puyuh salah satu ternak yang sedang banyak dibudidayakan. Ternak ini memiliki produktivitas yang tinggi dengan siklus biologis yang pendek. Sebagai ternak unggas yang bersiklus biologis pendek, memiliki laju metabolisme yang lebih tinggi dibandingkan ternak unggas yang lain. Konsekuensi ternak

dengan laju metabolisme, salah satunya adalah konsumsi oksigen yang tinggi untuk menunjang penyediaan energi (ATP) melalui oksidasi reduksi di matrik dalam mitokondria.

Dalam kondisi normal, sintesis ATP memicu produksi oksigen bervalensi satu yang merupakan sumber radikal bebas. Meskipun di dalam sel-sel normal memiliki enzim yang berperan sebagai antioksidan,

namun seiring dengan masa/umur sel maka kapasitas antioksidan menurun. Kondisi ini menjadi salah satu faktor penyebab nekrosis dan apoptosis. Nekrosis dan apoptosis adalah kematian sel, menjadi pemicu kematian jaringan dan penurunan fungsinya. Oleh sebab itu, peningkatan metabolisme dan umur ternak selalu diikuti dengan penurunan fungsi organ, antara lain organ hati (Weng *et al.*, 2007). Penurunan fungsi organ adalah dampak penurunan fungsi sel-sel hati karena kerusakan dan kematian sel (Mushawwir dkk., 2017 dan 2018).

Pemicu kerusakan dan kematian sel-sel hati juga disebabkan oleh faktor lain, seperti cemaran kapang dan aflatoxin dalam ransum. Data FAO menyatakan bahwa 25% suplai biji-bijian di dunia terkontaminasi oleh kapang dan mikotoksin. Bahkan di Asia Tenggara ditemukan sebanyak 50% jagung dan 90% bahan pakan ternak unggas terkontaminasi mikotoksin. Hasil penelitian Rachmawati (2005), menunjukkan bahwa sejumlah sampel jagung bahan pakan dari berbagai sumber di Indonesia menunjukkan lebih 50% mengandung aflatoxin melebihi kisaran toleransi (>50 ppb). Aflatoxin sumber pakan dipicu oleh salah satunya karena faktor makroklimat (Mushawwir dkk., 2010 dan 2011).

Upaya penanggulangan kerusakan jaringan hati perlu dilakukan, antara lain dengan pemberian bahan aditif alamiah, seperti minyak atsiri. Hasil-hasil penelitian terdahulu menunjukkan beberapa zat-zat aktif dari bahan alami berpotensi sebagai zat aditif untuk meningkatkan imunintitas dan memperbaiki profil darah (Mushawwir dkk., 2018); menurunkan kematian sel (Korivi *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2014), menurunkan hemoragi pada jaringan hati (Cortes-Coronado *et al.*, 2017). Zat-zat aktif yang terdapat dalam minyak atsiri terutama komponen diallyl, mampu bertindak sebagai zat antioksidan. Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan kemampuan allyl dalam menghambat keracunan kimia dari bahan alam (misalnya alfatoksin) (Yang *et al.*, 2011), menginduksi fungsi glutathione sebagai enzim antioksidan (Bose *et al.*, 2012) dan komponen diallyl trisulfida dalam minyak atsiri mampu meregulasi sinyal transduksi terkait dengan radikal bebas dalam mencegah kanker (Antosiewicz *et al.*, 2016).

Meskipun demikian, masih sangat minim informasi tentang efek pemberian minyak atsiri yang mengandung komponen zat aktif seperti diallyl terhadap kondisi histologi liver puyuh. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengkaji dampak pemberian minyak atsiri terhadap

kondisi histologi liver puyuh yang dipelihara secara intensif.

MATERI DAN METODE

Ternak dan kandang percobaan

Enam puluh empat ekor puyuh berjenis kelamin betina, berumur 22 minggu dengan kisaran berat badan $121 \pm 4,63$ g, telah digunakan dalam penelitian ini untuk mengkaji dampak pemberian minyak atsiri terhadap histologi livernya. Sampel ternak puyuh percobaan dibagi kedalam empat kelompok percobaan, masing-masing kelompok terdiri dari 16 ekor.

Setiap kelompok percobaan terdiri dari delapan kotak/sangkar, sekaligus sebagai ulangan, sehingga setiap ulangan terdiri dari 2 ekor puyuh. Masing-masing kotak berukuran 25 cm x 18 cm dan dilengkapi dengan tempat makan dan minum.

Percobaan ini telah dilakukan di salah satu peternak puyuh di Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat, selama satu bulan. Sampel jaringan telah dianalisis di Laboratorium Struktur Hewan, Jurusan Biologi Fakultas MIPA dan di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran.

Isolasi minyak atsiri, ransum basal dan rancangan percobaan

Pemisahan senyawa-senyawa minyak atsiri dari bawang putih dilakukan berdasarkan Block (1985), dengan prosedur, sampel bawang putih diiris dan dimasukkan ke labu alas bulat kemudian tambahkan akuades sampai seluruh sampel terendam sempurna di dalam labu alas bulat berleher panjang yang telah dirangkai dalam perangkat alat destilasi.

Destilasi dilakukan bertahap pertama dengan temperatur $75-80^{\circ}\text{C}$ dan tahap berikutnya selama 4-5 jam pada temperatur 100°C (Block, 1985). Senyawa atsiri yang diperoleh pada tahap pertama ditampung dalam corong pisah lalu dipisahkan antara atsiri dengan air. Kemudian minyak atsiri ditampung dalam wadah tertutup.

Ransum basal yang diberikan selama penelitian mengandung energi metabolisme 2800 kkal/kg, protein kasar 18,18%, lemak kasar 7,64%, serat kasar 3,32%, Ca 3,5% and available phosphorus 0,35%. Ransum diberikan secara terbatas sesuai kebutuhannya yaitu 17 g/ekor, sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum*.

Percobaan dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap, terdiri dari 4 perlakuan level minyak atsiri dan 8 ulangan.

Perlakuan diberikan sebagai berikut :

Kelompok L0 = Tanpa pemberian minyak atsiri (MA)

Kelompok L1 = Pemberian MA 75 µL/ekor

Kelompok L2 = Pemberian MA 100 µL/ekor

Kelompok L3 = Pemberian MA 125 µL/ekor

Pemberian minyak atsiri pada tiap-tiap ekor puyuh percobaan dilakukan pada setiap pagi hari (jam 06.00 – 07.00) selama satu bulan, sebelum ternak diberi makan. Pemberian minyak atsiri pada ternak percobaan tersebut dilakukan dengan teknik pencekakan, menggunakan mikropipet.

Koleksi dan analisis sampel

Koleksi atau pengambilan sampel telah dilakukan diakhir percobaan, dengan memilih secara acak masing-masing 10 ekor pada setiap kelompok percobaan. Sampel puyuh yang terpilih, dipotong dan segera dipisahkan jaringan hatinya (liver) sambil meneteskan larutan NaCl fisiologis. Liver yang telah dipisahkan segera dimasukkan ke dalam botol sampel yang telah berisi larutan fiksatif.

Analisis sampel dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan Mallory-Asan. Larutan-larutan reagen yang digunakan antara lain, larutan A (Minyak Aniline, ehanol 95%, Aquades), larutan B (Azocarmine G Cl n.50085, Asam Asetat Glasial, Aquades), larutan C (ethanol 95%, Asam Asetat Glasial, Asam Phospomolybdic), larutan D Trikrom Mallory (Aniline blue Cl n. 42755, Orange G Cl n. 16230, Aquades, Asam Asetat Glasial). Larutan utama disiapkan yang terdiri dari larutan A (ethanol 95% 100 ml, Minyak Aniline 0,1 ml), larutan B (Azocarmine G 0,1 mg, Aquades 100 ml, Asam Asetat Glasial 1 ml), larutan C (ethanol 95% 100 ml, Asam Asetat Glasial 1 ml), larutan D (

Aniline blue 0,5 mg, Orange G 2 mg, Aquades 100 ml, Asam Asetat Glasial 5-7 ml).

Preparat yang selesai dalam tahap pewarnaan, selanjutnya dianalisis parameter histologinya (apoptosis, nekrosis, degenerasi hidropik, degenerasi lemak, inflamasi sel, hemoragik) dilakukan dengan menggunakan mikroskop.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis varians acak lengkap dan uji beda kontras orthogonal (Gomes dan Gomes, 1995). Analisis dilakukan dengan aplikasi software SPSS IBM 21.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap histologi liver puyuh fase produksi. Histologi liver berdasarkan teknik pewarnaan Mallory-Asan menunjukkan penurunan kerusan sel-sel hati secara keseluruhan, baik kematian sel maupun degenerasi dan inflamasi sel (Tabel 1 dan Gambar 1), seiring dengan peningkatan level pemberian minyak atsiri.

Hasil analisis uji beda kontras orthogonal menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($P<0,05$) jumlah sel yang mengalami nekrosis, apoptosis, degenerasi lemak dan degenerasi hidropik jaringan antar kelompok perlakuan. Semakin tinggi level pemberian minyak atsiri, menunjukkan penurunan kematian sel dan kerusakan jaringan semakin rendah.

Penilaian secara kualitatif (Tabel 1 dan Gambar 1), juga menunjukkan inflamasi sel dan hemoragik jaringan hati, tampak terjadi kerusakan agak berat (++) pada kelompok

Tabel 1. Histologi liver puyuh fase layer dengan pemberian minyak atsiri bawang putih

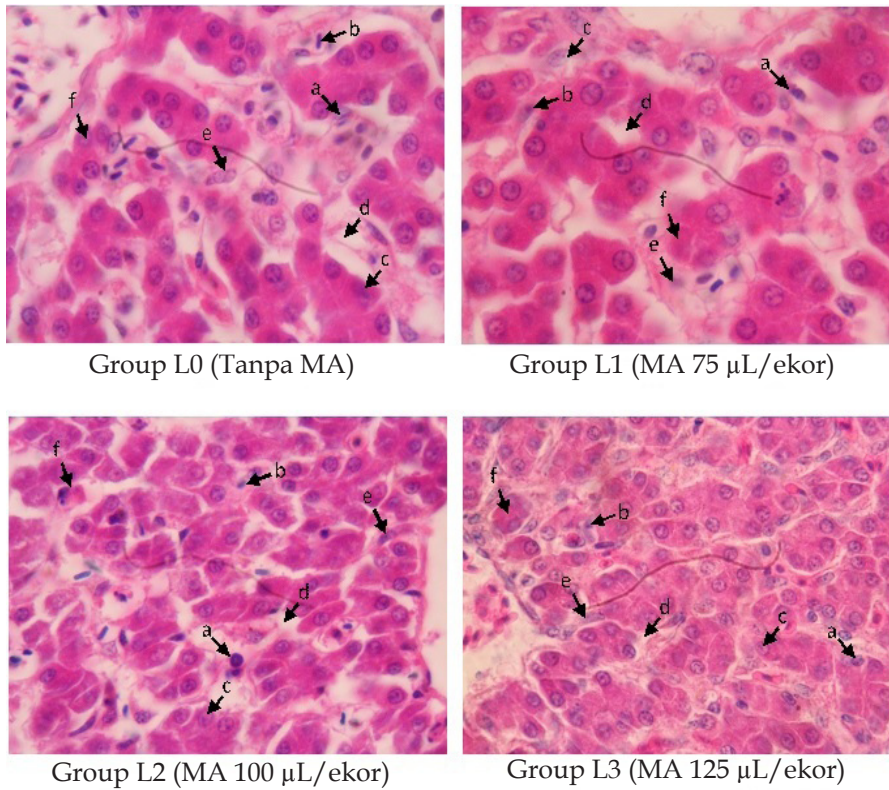
Histologik	Level Minyak Atsiri			
	L0	L1	L2	L3
Nekrosis	115±3.93 ^a	77±4,11 ^b	43±2,15 ^c	26±3,63 ^d
Apoptosis	125±4.83 ^a	85±2,05 ^b	46±3,05 ^c	35±2,83 ^d
Degenerasi Hidropik	47±3.02 ^a	39±1,92 ^b	25±2,84 ^c	12±1,11 ^d
Degenerasi Lemak	52±3.01 ^a	48±1,24 ^b	31±2,43 ^c	19±1,32 ^d
Inflamasi Sel	++	+	+	+
Hemoragik	++	++	+	+

L0 = Tanpa minyak atsiri; L1 = 75 µL/ekor; L2 = 100 µL/ekor; L3 = 125 µL/ekor

¹Rata-rata±Standard deviasi

^{a,b}Nilai yang diikuti dengan notasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0.05$)

+ kerusakan ringan; ++ kerusakan agak berat



Nekrosis (a); Apoptosis (b); Degenerasi Hydropic (c); Degenerasi Lemak (d);
Inflammasi akut (e); Hemoragik (f)

Gambar 1. Histologi liver puyuh tanpa dan dengan pemberian minyak atsiri bawang putih (x100 objek)

puyuh fase produksi tanpa pemberian minyak atsiri. Kerusakan ini menjadi lebih ringan (+) pada kelompok-kelompok puyuh yang mendapatkan minyak atsiri.

Beberapa penelitian terdahulu terkait penggunaan bahan-bahan ekstrak alamiah telah dilaporkan dan menunjukkan dampak yang positif terhadap histologi ginjal (Ansar dkk., 2014; Eyng *et al.*, 2015), yaitu menurunnya kerusakan sel-sel dan jaringan ginjal dan mampu mencegah/menurunkan kematian sel sebagai dampak radikal bebas sehingga menurunkan nekrosis dan apoptosis (kematian sel), serta meningkatkan fungsi kekebalan. Efek garlic yang sama juga telah dilaporkan Mushawwir dkk. (2017), peningkatan absorpsi dan pemanfaatan zat-zat nutrisi dan menurunnya kadar SGOT dan GPT serta menunjukkan peningkatan fungsi sel-sel hati.

Kuantifikasi dan uji kualitatif terhadap pengaruh minyak atsiri seperti yang ditampilkan pada Tabel 1 dan Gambar 1, tampak bahwa penanggulangan kerusakan sel dan jaringan sebagai efek pemberian minyak atsiri, semakin efektif seiring dengan bertambahnya level pemberian minyak atsiri. Perbaikan atau *recovery* sel-sel dipacu karena antara lain

kehadiran protein glutamil cystein dalam minyak atsiri, yang berperan meningkatkan anabolisme protein. Kim *et al.* (2009); Peinado *et al.* (2012) dan Damaziak *et al.* (2017) telah melaporkan bahwa secara alamiah, minyak atsiri garlic mengandung γ -glutamyl cysteine. Enzym ini mampu menghidrolisis dan mengoksidasi komponen allin menjadi senyawa-senyawa allin. Allin dan alicin selanjutnya meningkatkan sintesis protein sehingga memacu pertumbuhan sel-sel (Robert *et al.*, 2011), dan mencegah mutasi DNA (Yarrus *et al.*, 2009; Sirovina *et al.*, 2013).

Kematian sel baik nekrosis maupun apoptosis memicu peningkatan degenerasi hidropik, degenerasi lemak, inflamasi sel dan hemoragik. Oksigen bervalensi satu yang dihasilkan dari proses oksidasi reduksi di mitokondria selama respirasi selular, menjadi pemicu awal. Oksigen valensi satu ini adalah radikal bebas dan sekaligus prekursor senyawa radikal-radikal yang lain, seperti H_2O_2 , NO_x (Liu *et al.*, 2010).

Terkait dampak radikal bebas, Yarrus *et al.* (2009); Arya dkk. (2014) dan Lai *et al.* (2014), Chatterjee *et al.* (2015) mengemukakan bahwa sintesis protein dan lipid dapat mengalami penurunan dengan tajam sebagai dampak senyawa-senyawa radikal, juga dilaporkan

terjadi peningkatan kerusakan jaringan (Burdick *et al.*, 2011; Mohanty *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2014; Adriani *et al.*, 2015); peningkatan kematian sel (Kumar *et al.*, 2015), serta mutasi dan kerusakan DNA (Bertaggia *et al.*, 2014).

Minyak atsiri mampu mencegah stress oksidatif dan kerusakan yang ditimbulkan oleh senyawa radikal, sehingga menyebabkan perbaikan sel bagi jaringan-jaringan di abdomen maupun jaringan otot. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pertumbuhan jaringan yang tinggi sebagai dampak pemberian bahan aktif seperti atsiri juga disebabkan oleh menurunnya resiko inflamasi sel-sel (Sirovina *et al.*, 2013; McManaman *et al.*, 2014 dan Chatterjee *et al.*, 2015), menurunnya radikal bebas dari stres oksidatif (Korivi *et al.*, 2012; Bertaggia *et al.*, 2014); juga karena menurunnya apoptosis atau kematian sel-sel sehingga metabolisme jaringan menjadi optimal (Liu *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2015).

Minyak atsiri juga mengandung senyawa-senyawa group allyl dan sulfide (Robert *et al.*, 2010; Damaniziak *et al.*, 2017). Senyawa ini menstimulasi aktivitas antioksidan alami (misalnya glutation), meningkat dengan pemberian senyawa dari grup allyl dan sulfide (Bose *et al.*, 2002). Peningkatan glutation menginduksi diferensiasi sel-sel leukosit terutama lymphosit dan organ/jaringan yang berperan dalam sistem imun dan hormon terkait sistem imun (McManaman *et al.*, 2013), serta mencegah kerusakan gen (Pickler, 2013).

Hal yang sama juga telah ditunjukkan oleh Borek (2001), bahwa organosulfur dan allyl efektif dalam menghambat kerusakan DNA dan mutasi gen. Hasil penelitian lain, Amagase *et al.* (2001) melaporkan peningkatan bioavailabilitas nutrien dalam usus sehingga pemanfaatan asam-asam amino meningkat. Penurunan kerusakan/mutasi DNA dan mutasi gen serta denaturasi protein dapat mensupport pertumbuhan jaringan.

Secara spesifik mengenai efek diallyl sulfida (komponen atsiri) terhadap kemampuannya memperbaiki histologi liver, telah dilaporkan Picklaer *et al.* (2013) dan Cortes-Coronado *et al.* (2017), ditunjukkan bahwa diallyl sulfida memiliki atom S dan O yang bebas. Kedua atom ini memiliki afinitas yang tinggi terhadap senyawa-senyawa radikal yang membawa atom S dan O bermuatan. Nelson dan Cox (2008) serta Murray *et al.* (2012), menyatakan bahwa interaksi ini mampu mencegah kerusakan jaringan seperti hemoragik dan kematian sel (apoptosis, nekrosis, inflamasi) serta mampu mempertahankan struktur protein, karbohidrat dan lipid yang menyusun sel dan jaringan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Komponen minyak atsiri dari bawang putih mampu menginduksi berbagai jalur metabolisme terutama terkait dengan pertumbuhan jaringan termasuk liver. Mekanisme kimiawi dari komponen minyak atsiri mampu mempengaruhi dan mencegah aktivitas radikal bebas sehingga menstimulan anabolisme protein untuk pertumbuhan dan immunitas. Selain itu, komponen minyak atsiri mampu menstimulan signal hormonal terkait pertumbuhan jaringan dan metabolisme. Efek ini menyebabkan meningkatnya pertumbuhan dan *recovery* sel-sel liver yang rusak.

Saran

Pemberian minyak atsiri atau volatile oil yang diisolasi dari bawang putih, disarankan diberikan kepada burung puyuh sebanyak 125 µL/ekor fase layer untuk menurunkan dan mencegah resiko kerusakan jaringan liver. Perlu pula penelitian lanjutan tentang teknik pemberian minyak atsiri tersebut yang lebih efektif melalui ransum komplit atau air minum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pelaksanaan penelitian ini merupakan kerjasama dengan salah satu peternak puyuh di Kota Sukabumi, Jawa Barat. Untuk itu, peneliti menyampaikan terima kasih kepada Bpk Maman Suherman untuk penggunaan ternaknya sebagai sampel dan bantuan fisik selama penelitian, juga kepada Sdr. Adang Sudrajat, Jali dan Vina yang telah membantu dalam penelitian ini. Terima kasih juga kepada Dedi, M.Si., atas penyediaan reagent dan support biaya ransum.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, L. Abun dan A. Mushawwir. 2015. Effect of dietary supplementation of Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) skin extract on blood biochemistry and gut flora of broiler chicken. *Int. J. Poult. Sci.*, 14(2): 407-410.
- Ansar, S., M. Iqbal and N. Aljameil. 2014. Diallyl sulfide, a component of garlic, abrogates ferric nitrilotriacetate-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Human and Experimental Toxicology*, 33(4): 1209-1216.
- Antosiewicz, S., H. A. Anna, W.M. Stanley and V.S. Shivendra. 2016. C-jun NH2-terminal kinase signaling axis regulates diallyl trisulfide-

- induce generation of reactive oxygen species and cell cycle arrest in human prostate cancer cells. *Cancer Research*, 66(9): 5379-5386.
- Arya A, M.M. Al-Obaidi, N. Shahid, M.I. Bin Noordin, C.Y. Looi, W.F. Wong, S.L. Khaing and M.R. Mustafa. 2014. Synergistic effect of quercetin and quinic acid by alleviating structural degeneration in the liver, kidney and pancreas tissues of STZ-induced diabetic rats: a mechanistic study. *Food Chem. Toxicol.*, 71 (3):183-96.
- Bertaggia, E., G. Scabia, S. Dalise, F. Lo Verso, F. Santini, P. Vitti, C. Chisari, M. Sandri and M. Maffei. 2014. Haptoglobin is required to prevent oxidative stress and muscle atrophy. *PLoS One*, 9: e100745.
- Blok, E. 1985. The chemistry of garlic and onion. *Sci. American*, 252 (1): 115-119.
- Borek, C. 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J. Nutr.*, 131(3): 1010S-1015S.
- Bose, C., J. Guo, L. Zimniak, S.K. Sricastava, S.P. Singh, P. Zimniak and S. C. Singh. 2002. A critical role of allyl groups and disulfide chain in the induction of Pi class glutathione transferase in mouse tissues in vivo by diallyl disulfide, naturally according to the chemopreventive agent in garlic. *Carcinogenesis*, 23 (5):1661-1665.
- Bose, C., J. Guo, L. Zimniak, S.K. Sricastava, S.P. Singh, P. Zimniak and S. C. Singh. 2012. Critical role of allyl groups and disulfide chain in the induction of Pi class glutathione transferase in mouse tissues in vivo by diallyl disulfide, a naturally according chemopreventive agent in garlic. *Carcinogenesis*, 23 (8): 1661-1665.
- Burdick, N. C., J.A. Carroll R. Randel, S. Willard, R.Vann, C.C. Chase, S. Lawhon, L. Hulbert and J.T. Welsh. 2011. Influence of temperament and transportation on physiological and endocrinological parameters in bulls. *Livestock Sci.*, 39(3): 213-221.
- Chatterjee, N., S. Das, D. Bose, S. Banerjee, T. Jha and K.D. Saha. 2015. Leishmanial lipid affords protection against oxidative stress-induced hepatic injury by regulating inflammatory mediators and confining apoptosis progress. *Toxicol. Lett.*, 232(3): 499-512.
- Cortes-Coronado, R.F., S. Gomez-Rosales M.D.L. Angeles, M.T. Casaubon-Huguenin and T. Sorensen-Dalgaard. 2017. Influence of a yeast fermented product on the serum levels of the mannan-binding lectin and the antibodies against the Newcastle disease virus in Ross broilers. *J. Appl. Poult. Res.*, 26(5): 38-49.
- Damaziak, K., J. Riedel, D. Gozdowski, J. Niemiec, A. Siennicka and D. Rog. 2017. Productive performance and egg quality of laying hens fed diets supplemented with garlic and onion extracts. *J. Appl. Poult. Res.*, 26(7): 337-349.
- Eyng, C., A.E. Murakami, T.C. Santos, T.G.V. Silveira, R.B. Pedrosa and D.A.L. Lourenco. 2015. Immune responses in broiler chicks fed propolis extraction residue-supplemented diets. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 28(1): 135-142.
- Gomez, K.A. dan A.A. Gomez. 1995. *Prosedur Statistika untuk Penelitian Pertanian*. Edisi Kedua. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Kim Y. J., S.K. Jin and H.S. Yang. 2009. Effect of dietary garlic bulb and husk on the physicochemical properties of chicken meat. *Poult. Sci.*, 88(4): 398-405.
- Korivi M, C.W. Hou, C.Y. Huang, S.D. Lee, M.F. Hsu M.F, S.H. Yu, C.Y. Chen, Y.Y. Liu and C.H. Kuo. 2012. Ginsenoside-Rg1 protects the liver against exhaustive exercise induced oxidative stress in rats. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2012: 932165.
- Kumar, S.N., B. Bastia, A.G. Telang, K.P. Singh, R. Singh and A.K. Jain. 2015. Combined toxicity of endosulfan and ochratoxin-A in rats: histopathological changes. *J. Histol. Histopathol.*, 2(9): 22-27.
- Lai, Y.S., W.C. Chen, C.T. Ho, K.H. Lu, S.H. Lin, H.C. Tseng, S.Y. Lin and L.Y. Sheen. 2014. Garlic essential oil protects against obesity-triggered nonalcoholic fatty liver disease through modulation of lipid metabolism and oxidative stress. *J. Agric. Food. Chem.*, 62(1): 5897-5906.
- Lee D.H., S.R. Lim, S.S. Ra and J.D. Kim. 2014. Effects of dietary garlic powder on growth, feed utilization and whole-body composition change in fingerling sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus*. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 27(5): 1419-1429.
- Liu, C.M., Y.L. Zheng, J. Lu, Z.F. Zhang, S.H. Fan, D.M. Wu and J.Q. Ma. 2010. Quercetin protects rat liver against lead-induced oxidative stress and apoptosis. *Environ. Toxicol Pharmacol.*, 29(7): 158-166.
- McManaman, J.L., E.S. Bales, D.J. Orlicky, M. Jackman, P.S. MacLean, S. Cain, A.E. Crunk, A. Mansur, C.E. Graham, T.A. Bowman and A.S. Greenberg. 2013. Perilipin-2-null mice are protected against diet-induced obesity, adipose inflammation, and fatty liver disease. *J. Lipid Res.*, 54(4): 1346-1359.

- Mohanty, S.R., S.K. Sahoo, L.K. Babu, C.R. Pradhan, B. Panigrahi and S.K. Joshi. 2015. Effect of feeding different levels of protein on egg weight, egg quality, fertility, hatchability and fatty acid profile of eggs in Khaki Campbell duck during laying period. *Indian Vet. J.*, 92(4): 25-30.
- Murray, R.K., D.A. Bender, K.M. Botham, P.J. Kennelly, V.W. Rodwell and P.A. Weil. 2012. *Biokimia Harper*, Edisi 29. EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Mushawwir, A., U.H. Tanuwiria, K.A. Kamil, L. Adriani and R. Wiradimadja. 2017. Effects of volatile oil of garlic on feed utilization, blood biochemistry and performance of heat-stressed Japanese quail. *Asian J. Poult. Sci.*, 11 (2): 83-89.
- Mushawwir, A., U.H. Tanuwiria, K.A. Kurnia, L. Adriani, R. Wiradimadja and N. Suwarno. 2018. Evaluation of haematological responses and blood biochemical parameters of heat-stressed broilers with dietary supplementation of Javanese Ginger Powder (*Curcuma xanthorrhiza*) and Garlic Extract (*Allium sativum*). *Int. J. Poult. Sci.*, 17(3): 452-458.
- Mushawwir, A., Y.K. Yong, L. Adriani, E. Hernawan and K.A. Kamil. 2010. The Fluctuation Effect of Atmospheric Ammonia (NH₃) Exposure and Microclimate on Hereford Bulls Hematochemical. *J. Indon. Tropical Anim. Agric.*, 35 (5): 232-238.
- Mushawwir, A., L. Adriani and K.A. Kamil. 2011. Prediction models for olfactory metabolic and sows' reticulocyte (Rnart) by measurement of atmospheric ammonia exposure and microclimate level. *J. Indon. Tropical. Anim. Agric.*, 36(1): 14-20.
- Nelson, D.L. and M.M. Cox. 2008. *Lehninger Principles of Biochemistry*. W.H. Freeman and Company, New York, USA.
- Peinado M. J., R. Ruiz and A. Echavarri. 2012. Garlic derivative propyl propane thiosulfonate is effective against broiler enteropathogens in vivo. *Poult. Sci.*, 91(1): 2148-2157.
- Pickler, L., C.B. Breno, Beirão, M.H. Ricardo, F.D. Jean, C.L. Mariana, F.C. Luiz and E. Santin. 2013. Effect of sanguinarine in drinking water on Salmonella control and the expression of immune cells in peripheral blood and intestinal mucosa of broilers. *J. Appl. Poult. Res.*, 22(3): 430-438.
- Rachmawati, S. 2005. Aflatoksin dalam pakan ternak di Indonesia: persyaratan kadar dan pengembangan teknik deteksinya. *Wartazoa*, 15(3): 26-37.
- Robert, V., B. Mouille, C. Mayeur, M. Michaud and F. Blachier. 2011. Effects of the galic compound diallyl disulfide on the metabolism, adherence and cell cycle of HT-29 colon carcinoma cell: evidence of sensitive and resistant sub-population. *Carcinogenesis*, 22(8): 1155-1161.
- Sirovina D, N. Orsolic, M.Z. Koncic, G. Kovacevic, V. Benkovic and G. Gregorovic. 2013. Quercetin vs chrysin: effect on liver histopathology in diabetic mice. *Hum. Exp. Toxicol.*, 32(7): 1058-1066.
- Soisuwan, K. and N. Chauyuchwong. 2013. Effects of phytochemical feed additive with reduced dietary metabolizable energy and digestible essential amino acids on carcass yields and meat quality of Pekin ducks. *J. Appl. Sci. Res.*, 9(5): 6099-6102.
- Weng, D., Y. Lu, Y. Wei, Y. Liu and P. Shen. 2007. The role of ROS in microcystin-LR-induced hepatocyte apoptosis and liver injury in mice. *Toxicology*, 232(5): 15-23.
- Yang, S. C., K.C. Saranjit, H. Jun-Yan, and J.S. Theresa. 2011. Mechanism of inhibition of chemical toxicity and carcinogenesis by diallyl sulfide (DAS) and related compounds from garlic. *J. Nutr.*, 131(3): 1041S-1045S.
- Yarrus, L. P., R.S. Settivari, N.K.S. Gowda, E. Antoniou, D.R. Ledoux and G.E. Rottinghaus. 2009. Effects of turmeric (*Curcuma longa*) on the expression of hepatic genes associated with biotransformation, antioxidant, and immune systems in broiler chicks fed aflatoxin. *Poult. Sci.*, 88(3): 2620-2627.