

Dampak Pemberian Minyak Atsiri Bawang Putih terhadap Histologi Illeum Itik Cihateup Fase Pertumbuhan yang Dipelihara Sacara Ekstensif

The Effect of Garlic Essential Oil Supplementation on histological of Illeum of Extensive System Cihateup Duck in growing period

Andi Mushawwir*, N. Suwarno, A.A. Yulianti, & R. Permana

Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran Kampus Jatinangor, Jl. Raya Bandung-Sumedang KM. 21
Jatinangor, Sumedang Jawa Barat 45363
* corresponding email: mushawwir@unpad.ac.id.

ABSTRAK

Penelitian ini telah dilakukan selama sebulan dengan menggunakan delapan puluh ekor itik Cihateup berumur tiga bulan berjenis kelamin betina telah digunakan untuk mengkaji dampak penggunaan minyak atsiri terhadap kondisi histologik illeum. Pemisahan minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan teknik destilasi. Setiap kelompok percobaan terdiri dari 20 ekor itik, masing-masing diberi perlakuan L0=tanpa minyak atsiri; L1= Pemberian minyak atsiri 150 μL /ekor; L2 = Pemberian minyak atsiri 175 μL /ekor; L3= Pemberian minyak atsiri 175 μL /ekor. Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada akhir penelitian dengan menggunakan laturan fiksatif dan pembuatan preparat jaringan dilakukan dengan teknik Mallory-Asan dan dianalisis menggunakan mikroskop binokuler. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri mempengaruhi ($P<0,05$) morfometrik illeum (villi, plak peyeri dan sel goblet) dan semakin meningkat dengan meningkatnya pertambahan level minyak atsiri. Disimpulkan bahwa minyak atsiri mampu menstimulasi anabolisme protein dan lipid, juga signal hormonal terkait dengan pertumbuhan jaringan illeum.

Kata kunci: Atsiri; histologik, Itik

ABSTRACT

Eighty and three month old, female sex Cihateup duck were used in the current study to evaluate the potential of essential oil from garlic extract in improving histological illeum (morfometric of villi, plaque pey and goblet cells) which was rearing in extensive system. Volatile oil isolated from garlic by using destilation technique. Eighty of animal sample were assigned to four group, each treatment group consist of twenty of duck. There were 4 treatments with supplemental essential oil (VO) by orally, as follow L0=without of VO; L1= VO of 150 $\square\text{L}$; L2= VO of 175 $\square\text{L}$ and L3= VO of 200 $\square\text{L}$. Illeum tissue samples were collected using fixative solution and the illeum samples was used to determine the illeum morfometric parameters (villi, plaque pey and goblet cells) by a mallory-asan tecnique, using a histological kit. The current study showed that overall results indicated a significant treatment effect($P<0,05$) for illeum histological condition. VO can improve the illeum morfometric dimension in extensive sytem of duck. Based on the results of this study, VO resulted in supplemented levels that significantly enhanced of protein and lipid anabolic and stimulated hormone signal related growth illeum.

Keywords: Volatile oil; histological, duck

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan komoditi ternak lokal yang dapat dikembangkan agar memiliki produktivitas yang tinggi. Salah satu komoditi tersebut adalah ternak itik. Sekarang ini, telah dilakukan penetapan galur itik lokal Cihateup. Produktivitas ternak hanya ditentukan 30% oleh aspek genetik dan 70% selebihnya ditentukan oleh aspek lingkungan, meskipun keduanya tidak dapat bertindak secara mandiri tetapi selalu dibutuhkan interaksi keduanya.

Aspek lingkungan yang umumnya menjadi masalah bagi ternak unggas lokal adalah pakan dan lingkungan fisik. Diketahui bahwa Indonesia sebagai negara tropis memiliki temperatur lingkungan yang cukup tinggi (berkisar 25 – 35°C) bahkan di daerah tertentu dapat melebihi 35°C. Temperatur di atas zona nyaman bagi itik petelur (19 - 22°C) menyebabkan stress oksidatif (Mushawwir et al., 2010 dan 2011) yang berdampak terhadap tidak tercapainya produksi optimum.

Itik Cihateup umumnya menyebar di daerah Jawa Barat, diantaranya di dataran-dataran rendah seperti Cirebon, Indramayu, Subang, dataran rendah Garut dan Tasikmalaya, Kuningan. Selain tempertur yang tinggi, masalah lain yang menjadi penyebab belum optimalnya produktivitas itik tersebut adalah sistem pemeliharaan yang umumnya masih tradisional (ekstensif). Meskipun sistem ini memiliki keunggulan karena dapat meminimalkan biaya pakan. Namun, sistem pemeliharaan ini berisiko terhadap infeksi aflatoxin dan mikroba patogen. Kedua kondisi ini (temperatur dan sistem pemeliharaan) dapat menjadi pemicu

meningkatnya kerusakan jaringan usus (illeum).

Hasil-hasil penelitian tentang dampak lingkungan terhadap kondisi histologi illeum masih belum memadai, terutama terkait dengan upaya penanggulangannya dengan menggunakan bahan alami. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk menanggulangi dampak lingkungan tersebut adalah minyak atsiri dari bawang putih.

Hasil-hasil penelitian terdahulu menunjukkan beberapa zat-zat aktif dari bahan alami berpotensi sebagai zat additif untuk meningkatkan immunitas dan memperbaiki profil darah (Mushawwir et al., 2018); menurunkan kematian sel (2015). Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengkaji dampak pemberian minyak atsiri terhadap kondisi histologi illeum itik cihateup yang dipelihara secara tradisional.

BAHAN DAN METODE

Materi penelitian

Delapan puluh ekor itik Cihateup berjenis kelamin betina, berumur 3 bulan dengan kisaran berat badan $1363 \pm 82,67$ g, telah digunakan dalam penelitian ini untuk mengkaji dampak pemberian minyak atsiri terhadap histologi illeumnya. Ternak itik percobaan dibagi kedalam empat kelompok percobaan, masing-masing kelompok terdiri dari 20 ekor itik.

Tiap-tiap itik percobaan diberi wing tag berkodekan kelompok perlakuan (L0, L1, L2 dan L3). Itik dibiarkan beraktivitas (bermain, makan dan minum) sebebasnya sesuai dengan teknik pemeliharaannya, yaitu ekstensif. Percobaan ini telah dilakukan di salah satu

peternak itik di Kabupaten Subang, Jawa Barat, selama satu bulan. Sampel jaringan telah dianalisis di Laboratorium Stuktur Hewan, Jurusan Biologi Fakultas MIPA dan di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran.

Metode Penelitian

Isolasi Minyak Atsiri dan Cara Pemberian Perlakuan

Pemisahan senyawa-senyawa diallyl dilakukan berdasarkan Block (1985), dengan prosedur, sampel garlik diiris dan dimasukkan ke labu alas bulat kemudian tambahkan aquadest sampai seluruh sampel terandam sempurna di dalam labu alas bulat berleher panjang yang telah dirangkai dalam perangkat alat destilasi air.

Destilasi dilakukan bertahap pertama dengan temperatur 75-80°C dan tahap berikutnya selama 4-5 jam pada temperatur 1000C (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.

Pemberian perlakuan minyak atsiri dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan dengan dosis sebagai berikut :

L0 = Tanpa pemberian minyak atsiri

L1 = Pemberian minyak atsiri 150 µL/ekor

L2 = Pemberian minyak atsiri 175 µL/ekor

L3 = Pemberian minyak atsiri 175 µL/ekor

Pemberian minyak atsiri pada tiap-tiap ekor itik percobaan dilakukan pada setiap pagi hari (jam 06.00 – 07.00) selama satu bulan, sebelum ternak beraktivitas, makan dan

minum. Teknik pemberian minyak atsiri pada ternak itik tersebut dilakukan dengan teknik pencekokan, 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. Itik yang terpilih, dipotong dan segera dipisahkan jaringan usus (ileum) sambil meneteskan larutan NaCl fisiologis. Ileum yang telah dipisahkan segera dimasukkan ke dalam botol sampel yang telah berisi larutan fiksatif.

Analisis sampel telah dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan Mallory-Asan. Larutan-larutan reagen yang digunakan antara lain, larutan A (Minyak Aniline, ethanol 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).

Selanjutnya, telah disiapkan larutan preparat, terdiri dari larutan A (larutan aniline oil 0,1% dalam ethanol 95%; larutan B : azocarmine G dilarutkan dengan aquades, lalu didihkan. Kemudian ditambahkan asam asetat

glasial, dinginkan, disaring, dan dimasukkan ke oven suhu 50 C selama 24 jam. Sebelum digunakan ditambahkan 1 mL asam asetat glasial dan di oven selama 1 jam. Larutan D : aniline blue dan orange G dilarutkan kedalam aquades, didihkan. Kemudian ditambahkan asam asetat glasial, didihkan sebentar. Dinginkan, lalu disaring. Diencerkan terlebih dahulu dengan aquades sebelum digunakan dengan perbandingan 1:3.

Lilin pada preparat selanjutnya dibilas dengan air dan dimasukkan ke larutan A selama 1-2 menit, lalu dibilas dengan ethanol 95% kemudian dibilas aquades. Diletakkan kedalam larutan B (azocarmine) suhu 500C selama 1 jam, kemudian dinginkan lalu bilas dengan aquades. Preparat kemudian diikat dengan eukitt. Penentuan parameter histologi (morfometrik illium, plak peyeri dan sel goblet) dilakukan dengan menggunakan mikroskop.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji perbandingan Kruskal Wallis (Gomes dan Gomes, 1995). Analisis dilakukan dengan aplikasi software SPSS IBM 21.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Hemiselulosa

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri tampak berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap morfometrik illeum itik Cihateup dalam fase pertumbuhan, kecuali terhadap diameter sel goblet. Morfometrik illeum berdasarkan teknik pewarnaan Mallor-Asan

menunjukkan peningkatan dimensi illeum dan densitas sel-sel goblet (Gambar 1), seiring dengan peningkatan level pemberian minyak atsiri.

Hasil analisis Kruskal Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($P<0,05$) jumlah villi, panjang villi, jumlah plak peyeri, tinggi plak peyeri dan jumlah sel goblet, antar kelompok perlakuan. Semakin tinggi level pemberian minyak atsiri menunjukkan dimensi morfometrik illeum tersebut semakin bertambah. Beberapa penelitian terdahulu yang telah dilaporkan menunjukkan gejala yang serupa terhadap ginjal (Ansar *et al.*, 2014; Eyang *et al.*, 2015), yaitu menunnya kerusakan sel-sel ginjal dan mampu menanggulangi oksidasi akibat radikal bebas sehingga menurunkan nekrosis dan apoptosis (kematian sel), serta meningkatkan immunitas. Efek garlic yang sama juga telah dilaporkan Mushawwir *et al.* (2017), peningkatan pemanfaatan zat-zat nutrisi dan menurunnya kadar SGOT dan GPT menunjukkan peningkatan fungsi sel-sel hati.

Pertumbuhan villi illeum (Tabel 1 dan Gambar 1), baik jumlah maupun panjangnya menunjukkan perbedaan yang nyata lebih tinggi ($P<0,05$) seiring dengan bertambahnya level pemberian minyak atsiri. Pertumbuhan villi ini dipacu karena kehadiran protein glutamil cystein, 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 α -glutamyl cysteine dengan kadar yang tinggi. Enzym ini mampu menghidrolisis dan mengonksidasi komponen allin menjadi senyawa-senyawa lain. Allin dan alicin selanjutnya meningkatkan sintesis protein sehingga memacu pertumbuhan sel-sel.

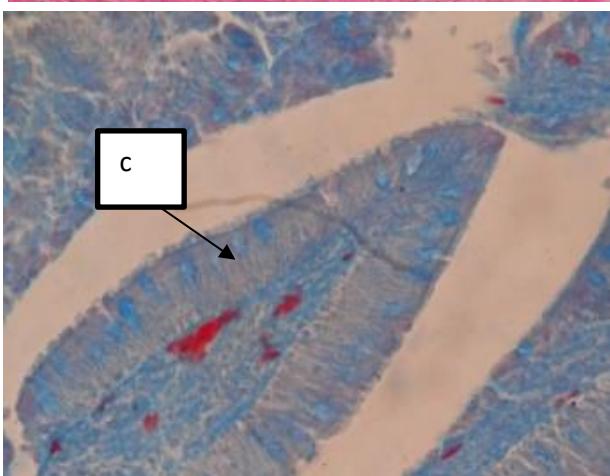
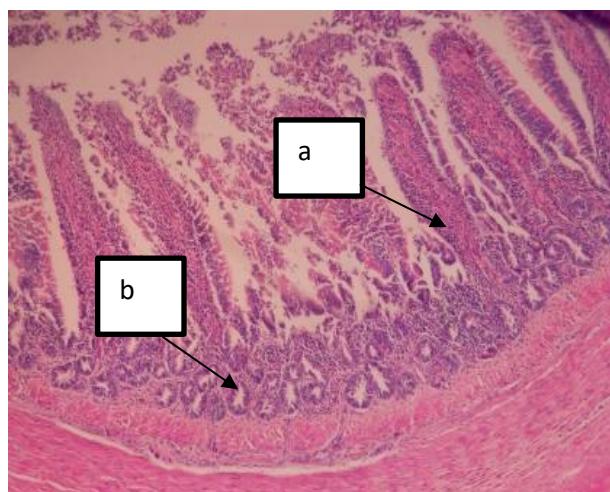
Tabel 1. Histologi Illeum Itik Cihateup Fase Pertumbuhan yang Dipelihara Secara Tradisional dengan Pemberian Minyak Atsiri Bawang Putih.

Histologik	Level Minyak Atsiri			
	L0	L1	L2	L3
Jumlah Villi*	8±2,20 ^a	9±2,11 ^a	13±1,11 ^b	15±1,32 ^c
Panjang Villi (μm)	253±26,12 ^a	279±12,74 ^b	379±21,55 ^c	428±13,52 ^d
Jumlah Plak Peyeri*	4±1,20 ^a	5±2,18 ^a	7±0,16 ^b	9±1,05 ^c
Tinggi Plak Peyeri (μm)	24±3,15 ^a	32±2,18 ^b	36±2,72 ^c	43±2,10 ^d
Jumlah Sel Goblet#	18±1,2	45±2,4	5±2,3	76±3,1
Diameter Sel Goblet (μm)	4±2,20 ^a	5±1,06 ^a	5±1,5 ^a	5±1,24 ^a

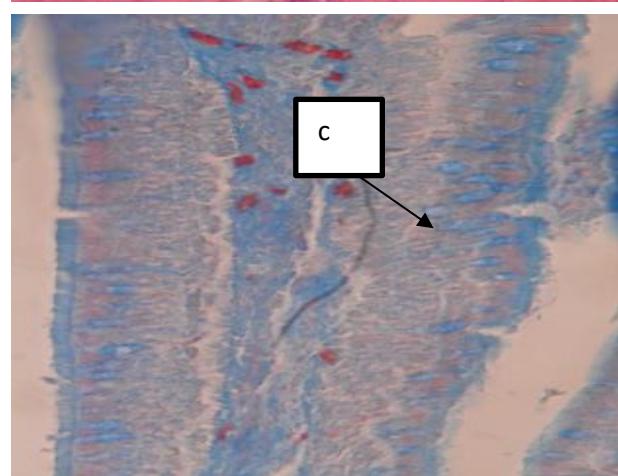
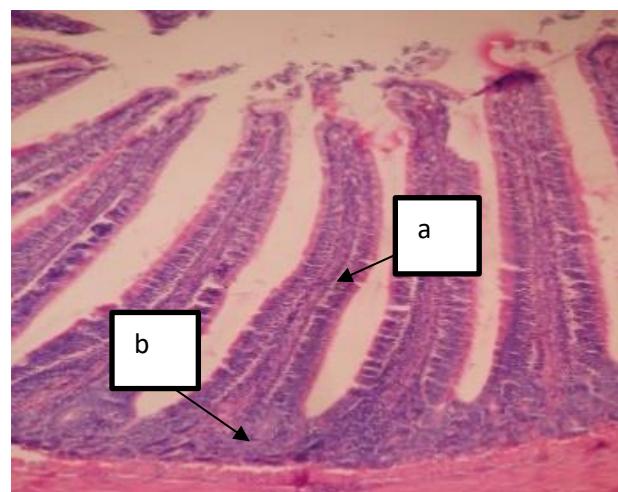
*Per lapang padang 10x Objek; # Per lapang padang 100x Objek

L0 = Tanpa minyak atsiri; L1 = 150 μL /ekor; L2 = 175 μL /ekor; L3 = 200 μL /ekor

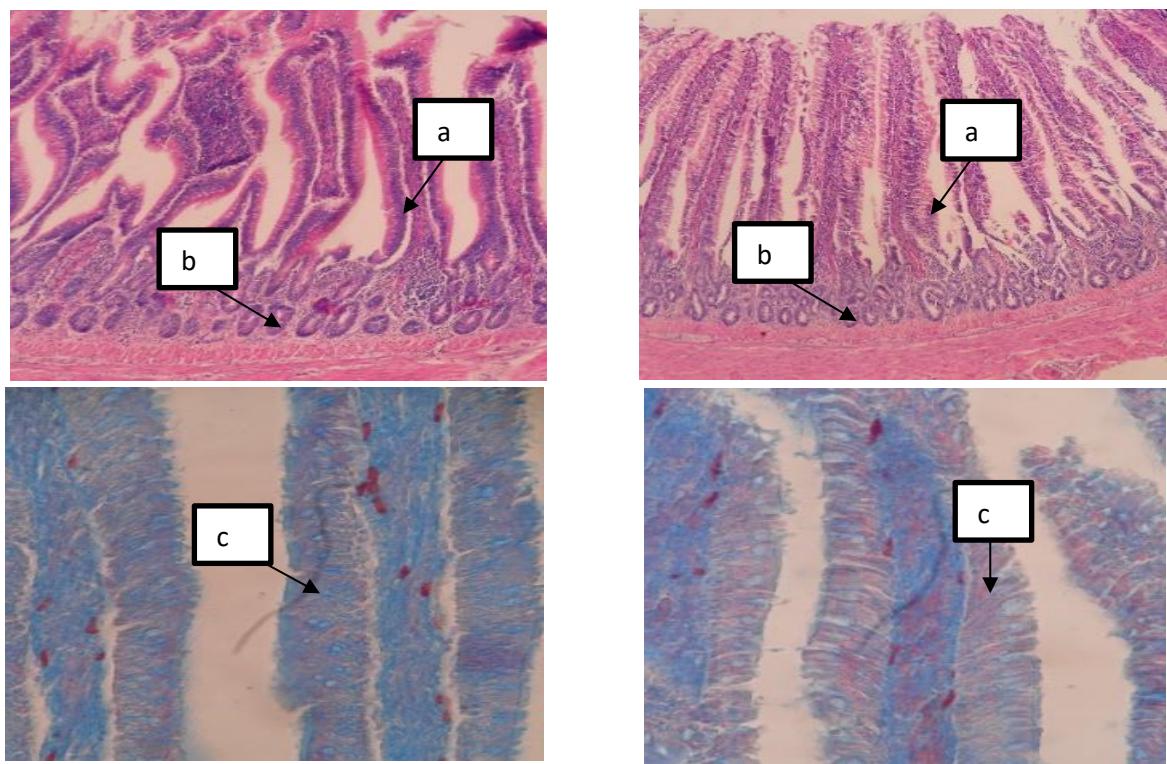
^{a,b} Nilai yang diukuti dengan notasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0.05$)



Tanpa Pemberian Minyak Atsiri



Pemberian Minyak Atsiri 150 μL /ekor (L1)



Pemberian Minyak Atsiri 150 µL/ekor (L1)

Pemberian Minyak Atsiri 150 µL/ekor (L1)

a = Villi ; b = Plak Peyeri c = Sel Goblet

Gambar 1. Histologi illeum itik Cihateup tanpa dan dengan pemberian minyak atsiri

Terkait pertumbuhan sel, Yarrus *et al.* (2009); Arya *et al.* (2014) dan Lai *et al.* (2014), mengemukakan bahwa sintesis protein dan lipid dapat mengalami peningkatan dengan tajam pada masa pertumbuhan, serta peningkatan pemanfaatan zat-zat makanan (Burdick *et al.*, 2011; Mohanty *et al.*, 2015; Soisuwan & Chauychuwong, 2013; Lee *et al.*, 2014).

Keadaan ini dapat didukung oleh pemberian bahan additif seperti atsiri. Atsiri mencegah stress oksidatif sehingga dapat pertumbuhan yang tinggi 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 disebebakan 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).

Hasil penelitian juga menunjukkan pertumbuhan plak peyeri dan sel goblet (Tabel dan Gambar 1) tampak semakin tinggi dengan meningkatnya level minyak atsiri. Diketahui bahwa plak peyeri merupakan nodulus-nodulus lymphatikus yang mengandung sel-sel

T dan B lymphosit, sebagai senyawa-senyawa immunitas. Minyak atsiri mengandung group allyl dan sulfide (Robert et al., 2010; Damaniziak et al., 2017). Peningkatan aktivitas antioksidan alami (misalnya glutation) juga meningkat dengan pemberian senyawa dari grup allyl dan sulfide (Bose et al., 2002). Peningkatan glutation mensitmulasi diferensiasi sel-sel darah putih dan organ/jaringan yang berperan dalam sistem immun.

Hal yang sama juga telah ditunjukkan oleh Borek (2001), dilaporkan juga bahwa organosulfur dan allyl efektif dalam menghambat kerusakan DNA dan mutasi gen. Hasil penelitian lain, Amagase et al. (2001) melaporkan peningkatan bioavabiliti nutrient dalam usus. Penurunan kerusakan DNA dan mutasi gen mensupport pertumbuhan plak peyeri.

Selain itu, biomolekul yang terdapat dalam plasma darah yang bersifat amfifatik menyebabkan terbentuknya interaksi yang sangat menguntungkan dengan dialyl sulfida (komponen atsiri) yang membawa atom S dan O bermuatan, sehingga meningkatkan pola intrekasi elektrostatik. Nelson & Cox, 2008; Murray et al., 2012; Picklaer et al., 2013 dan Cortés-Coronado et al., 2017, menyatakan bahwa interaksi elektrostatik ini mampu mempertahankan struktur protein, karbohidrat dan lipid yang berikatan dengannya. Secara tidak langsung, mengurangi resiko kerusakan biomolekul akibat panas, serta meningkatkan kapabilitas cairan tubuh. Kondisi ini secara langsung menunjang pertumbuhan sel dan jaringan plak peyeri.

KESIMPULAN

Minyak atsiri sebagai komponen bawang putih mampu mensitumulasi berbagai jalur metabolisme terutama terkait dengan pertumbuhan jaringan illeum. Mekanisme yang dipengaruhi adalah mencegah aktivitas radikal bebas sehingga mampu meningkatkan anabolisme protein untuk pertumbuhan dan immunitas. Selain itu, komponen minyak atsiri mampu mensitimulan signal hormonal terkait pertumbuhan jaringan dan metabolisme. Efek ini menyebabkan meningkatnya pertumbuhan villi, plak peyeri dan sel goblet illeum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pelaksanaan penelitian ini merupakan kerjasama nonformal dengan salah satu peternak itik cihateup di Kabupaten Subang, Jawa Barat. Untuk itu, peneliti menyampaikan terima kasih kepada Bpk Cecep untuk penggunaan ternaknya sebagai sampel dan bantuan fisik selama penelitian, juga kepada Sdr. Adang Sudrjat dan Vina yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, L. Abun. & A. Mushawwir. 2015. Effect of dietary supplementation of Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) skin extract on blood biochemistry and gut flora of broiler chicken. International Journal of Poultry Science. 14, 407 -410. DOI: 10.3923/ijps.2015.407.410.

- Ansar, S., M. Iqbal. & N. Aljameil. 2014. Diallyl sulphide, a component of garlic, abrogates ferric nitrilotriacetate-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Human and Experimental toxicology*. 33, 1209-1216. DOI: 10.1177/0960327114524237.
- Arya A, M.M. Al-Obaidi, N. Shahid, M.I. Bin Noordin, C.Y. Looi, W.F. Wong, S.L. Khaing. & 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 and Chemical Toxicology*. 71, 183-96. DOI: 10.1016/j.fct.2014.06.010.
- Bertaggia E, G. Scabia, S. Dalise, F. Lo Verso, F. Santini, P. Vitti, C. Chisari, M. Sandri. & M. Maffei. 2014. Haptoglobin is required to prevent oxidative stress and muscle atrophy. *PLoS One*. 9, e100745. DOI: 10.1371/journal.pone.0100745.
- Blok, E. 1985. The Chemistry of garlic and onion. *Scientific American*. 252: 115-119. DOI: 10.1038/scientificamerican0385-114
- Borek, C. 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *The Journal of Nutrition*. 1010S-1015S. DOI: 10.1093/jn/131.3.1010S.
- Bose, C., J. Guo, L. Zimniak, S.K. Srivastava, S.P. Singh, P. Zimniak & S. C. Singh. 2002. Critical role of allyl groups and disulfide cahin in induction of Pi class glutathione transferase in mouse tissues in vivo by diallyl disulfide, a naturally according chemopreventive agent in garlic. *Carcinogenesis*. 23, 1661-1665. DOI: 10.1093/carcin/23.10.1661
- Burdick, N. C., Carroll J. A., Randel R., Willard S., Vann R., Chase C. C., Lawhon S., Hulbert L. E. & Welsh J. T. 2011. Influence of temperament and transportation on physiological and endocrinological parameters in bulls. *Livestock Science*. 39, 213–221. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.01.013>.
- Chatterjee N, Das S, Bose D, Banerjee S, Jha T. & Saha K.D. 2015. Leishmanial lipid affords protection against oxidative stress induced hepatic injury by regulating inflammatory mediators and confining apoptosis progress. *Toxicology Letters*, 232, 499-512. DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.11.023.
- Cortés-Coronado, R.F., S. Gómez-Rosales M. de L. Angeles M. T., Casaubon-Huguenin T. & Sørensen-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. *Journal of Applied Poultry Research* 26, 38-49. <https://doi.org/10.3382/japr/pfw044>.
- Damaziak, K., Riedel J., Gozdowski D., Niemiec J., Siennicka A. & Róg D.. 2017. Productive performance and egg quality of laying hens fed diets supplemented with garlic and onion extracts. *The Journal of Applied Poultry Research*. 26, 337–349. <https://doi.org/10.3382/japr/pfx001>.
- Eyng, C., Murakami A.E., Santos T.C., Silveira T.G.V., Pedrosa R.B. & Lourenco D.A.L. 2015. Immune responses in broiler chicks fed propolis extraction residue-supplemented diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 28,135-142. DOI: 10.5713/ajas.14.0066.

- Gomez, K.A. & Gomez A. A., 1995. Prosedur Statistika untuk Penelitian Pertanian. Edisi Kedua. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Kim Y. J., Jin S.K. & Yang H.S.. 2009. Effect of dietary garlic bulb and husk on the physicochemical properties of chicken meat. *Poultry Science.* 88, 398-405. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00179>.
- Korivi M, Hou C.W., Huang C.Y., Lee S.D., Hsu M.F., Yu S.H., Chen C.Y., Liu Y.Y. & Kuo C.H. 2012. Ginsenoside-Rg1 Protects the Liver against Exhaustive ExerciseInduced Oxidative Stress in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* 93. DOI: 10.1155/2012/932165.
- Kumar, S.N., Bastia B., Telang A.G., Singh K.P., Singh R. & Jain A.K. 2015. Combined toxicity of endosulfan and ochratoxin-A in rats: histopathological changes. *Journal of Histology & Histopathology* 2, 22. <http://dx.doi.org/10.7243/2055-091X-2-22>.
- Lai, Y.S., Chen W.C., Ho C.T., Lu K.H., Lin S.H., Tseng H.C., Lin S.Y. & Sheen L.Y. 2014. Garlic essential oil protects against obesity-triggered nonalcoholic fatty liver disease through modulation of lipid metabolism and oxidative stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 62,5897-906. DOI: 10.1021/jf500803c.
- Lee D.H., Lim S.R., Ra S.S. & Kim J.D. 2014. Effects of dietary garlic powder on growth, feed utilization and whole body composition change in fingerling sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.* 27,1419-1429.
- [http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2014.14087.](http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2014.14087)
- Liu, C.M., Zheng Y.L., Lu J., Zhang Z.F., Fan S.H., Wu D.M. & Ma J.Q. 2010. Quercetin protects rat liver against lead-induced oxidative stress and apoptosis. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 29, 158-66. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.12.006>.
- McManaman, J.L., Bales E.S., Orlicky D.J., Jackman M., MacLean P.S., Cain S., Crunk A.E., Mansur A., Graham C.E., Bowman, T.A. & Greenberg A.S. 2013. Perilipin-2-null mice are protected against diet-induced obesity, adipose inflammation, and fatty liver disease. *Journal of Lipid Research.* 54, 1346-59. DOI: 10.1194/jlr.M035063.
- Mohanty, S.R., Sahoo S.K., Babu L.K., Pradhan C.R., Panigrahi B. & Joshi S.K. 2015. Effect of feeding different levels of protein on egg weight, egg quality, fertility, hatchability and fatty acid profile og eggs in Khaki Campbell duck during laying period. *Indian Veterinary Journal.* 92, 25-30. DOI: 10.3923/ajas.2016.106.112.
- Murray, R.K., Bender D. A., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V.W. & Weil P.A. 2012. Biokimia Harper, edisi 29. EGC Penerbit Buku Kedokteran
- Mushawwir A., Tanuwiria U.H., Kamil K.A., Adriani L. & Wiradimadja R. 2017. Effects of volatile oil of garlic on feed utilization, blood biochemistry and performance of heat-stressed japanese quail. *Asian Journal of Poultry Science.* 11, 83-89. DOI: 10.3923/ajpsaj.2017.83.89.

- Mushawwir, A, Tanuwiria, U.H., Kurnia A.K., Adriani, L., Wiradimadja, R. & Suwarno, N. 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*). International Journal of Poultry Science. 17, 452-458. DOI: 10.3923/ijps.2018.452.458.
- Mushawwir, A. Yong Y.K., Adriani L., Hernawan E. & Kamil K.A. 2010. The Fluctuation Effect of Atmospheric Ammonia (NH_3) Exposure and Microclimate on Hereford Bulls Hematochemical. Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture. 35, 232-238. <https://doi.org/10.14710/jitaa.35.4.232-238>.
- Mushawwir, A., Adriani L. & Kamil K.A. 2011. Prediction Models for Olfactory Metabolic and Sows% Rnareticulocyt (Rnart) by Measurement of Atmospheric Ammonia Exposure and Microclimate Level. Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture. 36, 14-20. <https://doi.org/10.14710/jitaa.36.1.14-20>.
- Nelson, D.L. & Cox M.M. 2008. Lehninger Principles of Biochemistry. W.H. Freeman and Company.
- Peinado M. J., Ruiz R. & Echavarri A. 2012. Garlic Derivative Propyl Propane Thiosulfonate Is Effective Against Broiler Enteropathogens In Vivo. Poultry Science. 91, 2148-2157. DOI: 10.3382/ps.2012-02280.

- Pickler , L., Breno C. B. Beirão , Ricardo M. H., Jean F. D., Mariana C. L., Luiz F. C & Santin E. 2013. Effect of sanguinarine in drinking water on *Salmonella* control and the expression of immune cells in peripheral blood and intestinal mucosa of broilers. The Journal of Applied Poultry Research 22, 430–438. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00649>.
- Robert, V., Mouille B., Mayeur C., Michaud M & Blachier F. 2001. Effects of the galic compound diallyl disulfide on the metabolism, adherence and cell cycle og HT-29 colon carcinoma cell: evidence of sensitive and resistant sub-population. Carcinogenesis. 22, 1155-1161. DOI:10.1093/carcin/22.8.1155.
- Sirovina D, Orsolic N, Koncic MZ, Kovacevic G., Benkovic V. & Gregorovic G. 2013. Quercetin vs chrysin: effect on liver histopathology in diabetic mice. Human & Experimental Toxicology. 32, 1058-66. DOI:10.1177/0960327112472993
- Soisuwan, K. & Chauychuwong N. 2013. Effects of phytonic feed additive with reduced dietary metabolizable energy and digestible essential amino acids on carcass yields and meat quality of pekin ducks. Journal of Applied Sciences Research. 9, 6099–6102.
- Yarrus, L. P., Settivari R.S., Gowda N.K.S., Antoniou E., Ledoux D.R. & Rottinghaus G.E. 2009. Effects of turmeric (*curcuma longa*) on the expression of hepatic genes associated with biotransformation, antioxidant, and immune systems in broiler chicks fed aflatoxin. Poultry Science. 88, 2620-2627. DOI: 10.3382/ps.2009-00204.