

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BLACK GARLIC TERHADAP KADAR ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT) DAN ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST) TIKUS YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

Susanto D^{1*}, Lisdiana¹, Christijanti W¹, Iswari R.S¹

¹Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang
Jl. Raya Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229.

*Email korespondensi: dwisusanto12@students.unnes.ac.id

Abstrak

Asap rokok menyebabkan timbulnya radikal bebas yang dapat merusak berbagai organ salah satunya organ hati. Untuk memperbaiki kerusakan sel hati akibat radikal bebas, maka diperlukan upaya untuk memberikan asupan antioksidan eksogen. Salah satu sumber antioksidan eksogen adalah ekstrak Black Garlic. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak Black Garlic terhadap kadar ALT dan AST tikus yang dipapar asap rokok. Metode penelitian yaitu eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Sampel hewan uji yang digunakan 25 ekor tikus jantan galur wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok (P1) kontrol negatif, kelompok (P2) kontrol positif hanya dipapar asap rokok, kelompok (P3, P4 dan P5) merupakan perlakuan yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak Black Garlic secara berurutan dengan dosis 250, 500, 1000 mg/kgBB. Data kadar ALT-AST dianalisis menggunakan uji ANOVA one way dan uji lanjut Duncan. Parameter yang diteliti yaitu kadar ALT dan AST serum darah tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Ekstrak Black Garlic dosis 1000 mg/kgBB berpengaruh signifikan menurunkan terhadap kadar AST hati tikus yang dipapar asap rokok dan tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar ALT tikus yang dipapar asap rokok.

Kata kunci: ALT-AST, Black Garlic, hati, asap rokok.

1. PENDAHULUAN

Sebatang rokok memiliki berbagai macam bahan kimia yang terkandung di dalamnya dan apabila rokok tersebut dibakar, akan menghasilkan sekitar 4.800 komponen jenis senyawa bahan kimia, di antaranya adalah nikotin, hidrogen sianida, gas karbon monoksida, akrolein, nitrogen oksida, tar, ammonia, benzena, dan etanol. (Unitly dkk., 2014). Selain mengandung bahan yang bersifat racun, di dalam asap rokok terdapat juga zat-zat radikal bebas, di antaranya peroksinitrit, hidrogen peroksida, dan superoksida. Radikal bebas pada asap rokok dapat memicu kerusakan seluler akibat stres oksidatif. Molekul target yang dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak, dan protein. (Fitria dkk., 2013). Asap dari pembakaran rokok kretek memiliki kadar radikal bebas yang tinggi yang kemudian masuk ke dalam tubuh disetiap hirupannya. Radikal bebas dapat mengakibatkan mengganggu keseimbangan tubuh dan meyebabkan stres oksidatif yang berpotensi akan merusak sel dan tidak terkecuali sel hati. (Setyaningrum dan Soejoto, 2016).

Hati merupakan salah satu organ penting di dalam tubuh. Hati sangat rentan terhadap kerusakan yang ditimbulkan dari asap rokok yang dapat memicu terjadinya stres oksidatif. (Ferdian, 2015). Stres oksidatif merupakan suatu kondisi gangguan keseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang berpotensi menimbulkan kerusakan. (Apreliantino, 2013) Salah satu fungsi hati adalah sebagai detoksifikasi senyawa-senyawa racun. Enzim pelaku detoksifikasi pada hati ini dapat digunakan sebagai parameter kerusakan hati. Terdapat enzim transaminase atau disebut juga enzim aminotransferase, ada 2 macam enzim aminotransferase yakni Alanine aminotransferase (ALT) dan Aspartate aminotransferase (AST). ALT dan AST merupakan enzim-enzim yang dibuat di dalam sel-sel hati. Hati menggunakan enzim-enzim ini untuk metabolisme asam amino dan untuk membuat protein. Ketika sel-sel hepar rusak atau mati, kedua enzim ini keluar dari hati menuju pembuluh darah, sehingga menyebabkan kadarnya meningkat dalam darah. (Widigdo, 2014).

Masyarakat di Indonesia telah mengenal dan menggunakan berbagai macam tanaman yang berkhasiat obat sebagai penanggulangan masalah kesehatan sejak zaman dahulu. Bawang putih

(*Allium sativum* L.) merupakan tanaman yang sangat menguntungkan di dalam pengolahannya, salah satunya dapat diolah dengan cara fermentasi, hasil fermentasi bawang putih yakni berupa Black Garlic. Proses fermentasi untuk menghasilkan Black Garlic melibatkan suhu dan juga kelembapan. Pengolahan dengan pengeringan pada bahan pangan dapat mempengaruhi peningkatan kandungan vitamin C dan aktivitas antioksidan, dan total fenol (Mphahlele dkk., 2016). Apabila dibandingkan dengan bawang putih segar, Black Garlic menunjukkan antioksidan yang lebih kuat dan memiliki kemampuan menangkap aktivitas radikal bebas (Kim dkk., 2012). Berdasarkan pada beberapa penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa ekstrak Black Garlic menunjukan beberapa manfaat seperti antioksidan, anti-alergi, anti-diabetes, anti-inflamasi, dan anti-karsinogenik. (Ha dkk., 2015; Jeong dkk., 2016; Kim dkk., 2014; Park dkk., 2014; Yoo dkk., 2014).

2. METODOLOGI

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan desain penelitian *post test randomized control group design*. Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 180-200 gram diperoleh dari tempat pemeliharaan dan intervensi hewan coba Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Diberi makan dan minum secara ad libitum. Black Garlic diperoleh dari hasil riset Bioteknologi BPPT yang menggunakan teknologi *far infrared* dan *gradual heating* selama 26 hari. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Negeri Semarang.

Sampel hewan uji yang digunakan 25 ekor yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Kelompok (P1) sebagai kontrol negatif, kelompok (P2) sebagai kontrol positif hanya dipapar asap rokok tanpa diberi ekstrak Black Garlic, kelompok (P3) dipapar asap rokok dan diberi ekstrak Black Garlic 250 mg/kgBB, kelompok (P4) dipapar asap rokok dan diberi ekstrak Black Garlic 500 mg/kgBB, kelompok (P5) dipapar asap rokok dan diberi ekstrak Black Garlic 1000 mg/kgBB. Pemberian ekstrak Black Garlic dilakukan dengan menggunakan bantuan sonde. Perlakuan dilakukan selama 30 hari. Pengambilan sampel uji darah tikus yang diambil melalui pembuluh darah sinus orbitalis yang kemudian darah disentrifuge untuk mendapatkan serum darah dengan kecepatan 1600 rpm selama 10 menit sampai serum terpisah. Serum yang telah didapatkan diletakan dalam tabung *ependorf*. Pemeriksaan kadar ALT dan AST dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan dan Pengujian Alat Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Nilai kadar ALT dan AST diuji dengan metode IFFC *without pyridoxal phosphate* dengan menggunakan kit reagen DiaSys. Parameter yang diteliti yaitu kadar ALT dan AST serum darah tikus. Analisis data berupa hasil pengukuran dari kadar ALT dan AST dalam serum darah tikus secara statistik dengan ANOVA *one way* dan uji lanjut *Duncan*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian ekstrak Black Garlic terhadap kadar ALT dan AST pada tikus yang dipapar asap rokok. Hasil uji kadar ALT dan AST menunjukkan hasil yang bervariasi. Variasi tersebut diduga akibat pengaruh dari pemberian dosis ekstrak Black Garlic yang diberikan berbeda-beda yaitu dosis 250, 500, 1000 mg/kgBB.

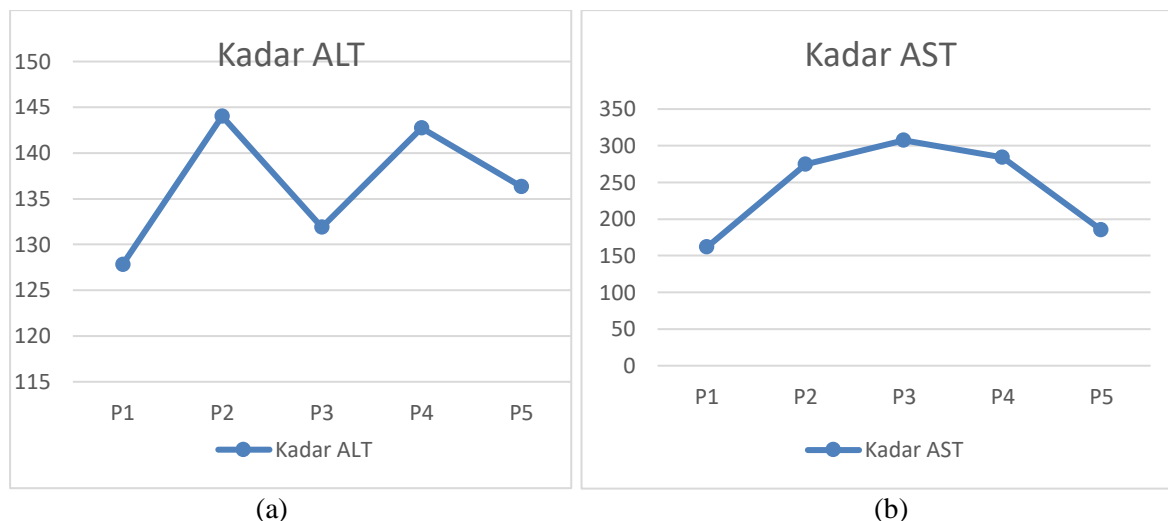
Tabel 1. Hasil analisis rata-rata kadar ALT dan AST (U/L) serum darah tikus jantan galur wistar setelah 30 hari pemberian ekstrak Black Garlic dengan dosis dengan 250, 500 dan 1000 mg/kgBB.

Tabel 1. Tabel hasil uji kadar ALT dan AST

Kelompok	Rata-rata kadar ALT (U/L) \pm SD	Rata-rata kadar AST (U/L) \pm SD
P1	127.83 \pm 23,244 ^a	161,63 \pm 46,588 ^a
P2	144.02 \pm 27,886 ^a	274,77 \pm 51,073 ^{bc}
P3	131.91 \pm 22,162 ^a	307,34 \pm 98,768 ^c
P4	142.73 \pm 44,731 ^a	284,21 \pm 54,788 ^c
P5	136.33 \pm 21,168 ^a	185,43 \pm 29,770 ^{ab}

Keterangan: tanda huruf dibelakang angka (a, b, c) menunjukkan notasi huruf serupa yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ($p>0.05$).

Gambar 1. Grafik rata-rata pengukuran kadar enzim ALT dan AST dari seluruh perlakuan.



(a) (b)
Gambar 1. Grafik rata-rata kadar ALT (a) dan AST (b)

3. 1 Pengukuran Kadar ALT

ALT merupakan salah satu jenis enzim transaminase yang sering dikaitkan dengan kerusakan sel pada organ hati, dikarenakan konsentrasi ALT tertinggi pada tubuh terdapat di organ hati, maka aktivitas ALT memiliki spesifitas yang relatif tinggi sebagai indikator kerusakan pada hati. Jika terjadi gangguan kesehatan pada organ hati akibat senyawa toksik atau radikal bebas, maka berbagai enzim yang berada di sitosol akan masuk ke peredaran darah dan menyebabkan adanya perbedaan permeabilitas pada membrane sel sehingga kadar enzim transaminase dalam darah akan meningkat.

Berdasarkan pada Tabel 1. bahwa data hasil pengukuran kadar enzim ALT setelah di uji normalitas memiliki nilai berdistribusi tidak normal, karena menunjukkan nilai $p<0.05$ yaitu 0.037 (P1) dan 0.040 (P2) dan pada kelompok perlakuan P3, P4, dan P5 data kadar ALT terdistribusi normal karena menunjukkan nilai $p>0.05$ yaitu 0.580 (P3), nilai $p>0.05$ yaitu 0.087 (P4) dan nilai $p>0.05$ yaitu 0.478 (P5). Kemudian dilanjutkan uji homogenitas varian dilakukan pada kelima kelompok dengan Uji *Test of Homogeneity of Variance*. Hasil dari analisis untuk Kadar ALT $p = 0.183$ dimana $p > 0.05$ maka varian data yang ada homogen. Dari hasil uji ANOVA *One way* menunjukkan bahwa data tidak terdapat perbedaan rata-rata kadar ALT yang signifikan antar kelompok perlakuan, yang dibuktikan dengan nilai $p>0.885$, maka data kadar ALT tidak dapat di uji lanjut, dikarenakan nilai $p>0.05$. Hasil uji statistik menunjukkan tidak ada pengaruh yang signifikan pada pemberian ekstrak Black Garlic terhadap kadar ALT tikus yang dipapar asap rokok.

Pada gambar 1 (a). Grafik menunjukkan bahwa rata-rata kadar ALT dikeseluruhan perlakuan mengalami peningkatan dari ambang batas normal. Kadar normal untuk ALT 126 ± 44 u/L (Kendran dkk., 2017). Meningkatnya kadar enzim ALT dalam serum darah tikus disebabkan oleh rusaknya sel-sel yang mengandung enzim transaminase, sehingga enzim transaminase tersebut masuk ke dalam sirkulasi darah. Menurut Ferdian (2015), bahwa paparan asap rokok dapat meningkatkan kadar ALT. Pada kelompok perlakuan kontrol positif (P2) menunjukkan peningkatan yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif (P1), rata-rata kadar ALT (P2) tertinggi yaitu sebesar $144,02 \pm 27,88$ U/L, mengalami peningkatan dari ambang batas normal. Hal tersebut dapat dikarenakan toksisitas senyawa kimia dalam asap rokok yang diberikan selama masa pemberian perlakuan. Menurut Kumar dkk., (2014), mekanisme kerusakan sel hati yang disebabkan oleh radikal bebas yaitu dengan cara merusak lapisan fosfolipid yang menyusun membran sel hati, sehingga mengganggu permeabilitas membran sel lalu terjadi peningkatan

influks kalsium dari ekstrasel maupun pelepasan kalsium dari retikulum endoplasma dan mitokondria. Peningkatan influks kalsium memicu pengaktifan sejumlah enzim perusak seperti enzim protease yang dapat merusak DNA, ketika DNA rusak maka poliribosom meningkat dan terjadi pengosongan NAD yang mengakibatkan terhambatnya sintesis ATP. Sintesis ATP yang terhambat menyebabkan kerusakan pada sel hati atau nekrosis, kemudian diikuti oleh meningkatnya kadar enzim ALT dalam serum akibat lisisnya lisosom dalam membran plasma. Sedangkan rata-rata kadar ALT terendah (bukan kelompok perlakuan kontrol negatif) ditunjukkan oleh perlakuan dengan pemberian dosis 250 mg/kgBB yaitu sebesar $131.91 \pm 22,162$ U/L, mengalami sedikit peningkatan dari ambang batas normal. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya efek pemberian ekstrak Black Garlic selama masa perlakuan diduga sebagai indikator proses perbaikan. Ekstrak Black Garlic memiliki kandungan aktivitas antioksidan dan total fenol (Mphahlele dkk., 2016). Black Garlic menunjukkan antioksidan yang lebih kuat dan memiliki kemampuan menangkap aktivitas radikal bebas. (Kim dkk., 2012).

Selain itu, karena dosis Black Garlic yang rendah dan antioksidan endogen pada tubuh tikus pada kelompok perlakuan 250 mg/kgBB diduga memiliki peran protektif lebih besar, sehingga mampu meminimalisasi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas pada organ hati dengan cara mengaktifasi respons antioksidan melalui peningkatan aktivitas enzim superoxide dismutase (SOD) di mitokondria dan disitoplasma serta kadar glutathione (GSH) total (Azzahra, 2020). Salah satu antioksidan endogen berupa enzim SOD dan antioksidan non enzimatis yaitu GSH. Fungsi keduanya untuk mengontrol level radikal bebas dan juga menghancurkan radikal bebas (Delgado dkk., 2018). Pada kelompok perlakuan yang dipapar asap rokok setelah pemberian ekstrak black garlic 500 dan 1000 mg/kgBB (P4 & P5) menunjukkan penurunan kadar ALT yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol positif P2 ($p > 0,05$) dan juga tidak berbeda nyata pula dengan perlakuan kontrol negatif P1 ($p > 0,05$).

3. 2 Pengukuran Kadar AST

Kadar enzim AST meningkat selaras dengan peningkatan kadar enzim ALT dalam serum darah disebabkan oleh rusaknya sel-sel yang mengandung enzim transaminase. Berdasarkan pada Tabel 1. Data hasil pemeriksaan kadar enzim AST setelah di uji normalitas memiliki nilai $p > 0,05$, maka data kadar AST terdistribusi normal. Dilanjutkan uji homogenitas varian dilakukan pada kelima kelompok dengan Uji *Test of Homogeneity of Variance*. Hasil dari analisis untuk Kadar AST $p = 0.097$ dimana $p > 0.05$ maka varian data yang ada homogen. Dari hasil uji ANOVA One-way menunjukkan bahwa data terdapat perbedaan rata-rata kadar AST yang signifikan antar kelompok perlakuan karena nilai $p < 0.05$ yaitu 0.004. Hasil uji lanjut statistik *Post Hoc Tests* yaitu uji statistik *Duncan*. Hasil dari uji Duncan menunjukkan bahwa kadar AST (P1) berbeda signifikan dengan kadar AST (P2), P3, dan P4). Kadar AST (P2) tidak berbeda signifikan dengan kadar AST (P1, P3, P4 dan P5). Kadar AST P5 tidak berbeda signifikan dengan (P1).

Gambar 1 (b). Grafik menunjukkan bahwa rata-rata dari keseluruhan perlakuan mengalami kenaikan kadar AST dari ambang batas normal. Kadar normal enzim AST pada hewan coba tikus putih yaitu $141 \pm 67,4$ U/L. (Kendran dkk, 2017). Kelompok kontrol negatif (P1) memiliki rata-rata kadar AST terendah dari semua kelompok perlakuan. Hasil penelitian pada kelompok perlakuan kontrol positif (P2) menunjukkan peningkatan yang signifikan terjadi pada pemeriksaan kadar AST jika dibandingkan dengan kontrol negatif (P1). Ferdian (2015), menyatakan bahwa paparan asap rokok dapat meningkatkan kadar AST. Kelompok perlakuan (P3) dengan pemberian ekstrak Black Garlic 250 mg/kgBB menunjukkan rata-rata kadar AST tertinggi yaitu sebesar $307,34 \pm 98,768$ U/L, mengalami peningkatan dari ambang batas normal yaitu $141 \pm 67,4$ U/L. Pada kelompok (P3) ini tidak selaras dengan kenaikan kadar ALT. Rata-rata kadar AST tertinggi selanjutnya yaitu ditunjukkan oleh kelompok perlakuan ekstrak Black Garlic 500 mg/kgBB yang mengalami peningkatan sebesar $284,21 \pm 54,788$ U/L, hal tersebut semakin mendukung dugaan kerusakan organ hati, dikarenakan pada pengukuran kadar enzim ALT, kelompok perlakuan ekstrak Black Garlic 500 mg/kgBB juga menunjukkan hasil tinggi.

Pada kelompok perlakuan yang dipapar asap rokok dan setelahnya diberi ekstrak Black Garlic 250, 500 dan 1000 mg/kgBB (P3, P4, P5) menunjukkan penurunan kadar AST yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol positif P2 ($P > 0,05$). Akan tetapi pada

kelompok perlakuan yang dipapar asap rokok dan setelahnya diberi ekstrak Black Garlic 1000 mg/kgBB (P5) menunjukkan penurunan kadar ALT yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol negatif P1 ($P>0,05$). Hal tersebut diduga adanya pengaruh dari pemberian ekstrak Black Garlic yang berperan memperbaiki kerusakan sel hati, Black Garlic berperan sebagai antioksidan eksogen yang dapat membantu memperbaiki kerusakan sel hati akibat radikal bebas atau senyawa toksik dari asap rokok. Efek dari Black Garlic berhubungan terhadap kemampuannya berinteraksi dengan anion superoksida dan senyawa radikal lainnya untuk menghasilkan lebih sedikit spesies radikal bebas yang toksik. Pernyataan tersebut sejalan dengan pendapat Kim dkk., (2012), yang menyatakan bahwa Black Garlic menunjukkan antioksidan yang lebih kuat dan memiliki kemampuan menangkap aktivitas radikal bebas. Ekstrak Black Garlic memiliki kandungan berbagai senyawa aktif diantaranya *S-allyl-L-cysteine* (SAC), flavonoid, tanin, saponin, sterol, polifenol, dan allicin (Agustina dkk., 2020; Cholis, 2010; Salima, 2015; Wang dkk., 2010). Flavonoid termasuk senyawa aromatik yang bersifat antioksidan. Antioksidan dapat menghambat proses oksidasi yang timbul akibat adanya reaksi radikal bebas membentuk senyawa yang tidak reaktif. Senyawa flavonoid aktif dalam menangkal radikal bebas ditentukan dari adanya gugus fungsi $-OH$ (hidroksi), sehingga dapat mencegah inflamasi dan kerusakan jaringan yang dimediasi oleh stres oksidatif. Sehingga dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak Black Garlic dengan dosis 1000 mg/kgBB mampu untuk menurunkan kadar enzim AST hati tikus yang dipapar asap rokok.

Rokok mengandung senyawa kimia yang bersifat toksik bagi tubuh. Tiga komponen toksik yang utama dalam asap rokok adalah karbonmonoksida (CO), nikotin (C₁₀H₁₄N₂), dan tar. Apabila terjadi kerusakan terhadap membran sel hepar akibat peroksidasi lipid oleh radikal bebas maka dapat menyebabkan keluarnya ALT dan masuk ke dalam darah. Namun, apabila kerusakan sudah mencapai organel mitokondria maka dapat menyebabkan AST keluar dari sel dan masuk ke dalam aliran darah. Sehingga menyebabkan peningkatan aktivitas aminotransferase serum darah. Radikal bebas merupakan atom reaktif yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada organ tubuh yang salah satunya adalah organ hati. Terjadinya peningkatan kadar ALT dan AST tersebut diduga akibat adanya peradangan ringan yang bersifat reversibel pada sel hati sehingga mengakibatkan stabilitas sel terganggu. Gangguan stabilitas sel dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas pada membran sel. Dengan peningkatan permeabilitas membran sel, enzim ALT dan AST yang terdapat di sitoplasma dan mitokondria akan keluar dari sel-sel hati dan masuk ke dalam sirkulasi darah. Maka akan terlihat terjadinya peningkatan aktivitas ALT dan AST pada serum darah. Meskipun terdapat pengaruh pemberian ekstrak Black Garlic yaitu menurunnya kadar enzim AST, pengaruhnya signifikan pada dosis 1000 mg/kgBB. Pengaruh pemberian ekstrak Black Garlic yang signifikan disebabkan dosis ekstrak yang digunakan tergolong dalam rentang tinggi dan masa pemberian perlakuan yang singkat.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa, pemberian ekstrak Black Garlic berpengaruh signifikan menurunkan kadar enzim AST tikus yang dipapar asap rokok pada dosis 1000 mg/kgBB dan ekstrak Black Garlic tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar enzim ALT tikus yang dipapar asap rokok

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F., & Hidayati, I., (2020), Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (Black Garlic) dengan Variasi Lama Pemanasan, *Al-Kaunyah*, 13 (1), pp. 39-50.
- Apreliantino N. P., (2013), Pengaruh *Sidestream Smoke* Pada Kadar Sgpt Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*), *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Jember.
- Azzahra, H., (2020), Fungsi Enzimatis Kadar Alanine Transaminase Gambaran Histopatologis Organ Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), *Skripsi*, Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel, Surabaya.
- Cholis. N., (2010), *Ensiklopedia Obat-Obatan Alami*. Bengawan Ilmu. Semarang.
- Ferdian, R., (2015), Perbedaan Kadar SGOT dan SGPT Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Asap Rokok Herbal dan Asap Rokok Konvensional, *Skripsi*, Fakultas

- Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Delgado, M.F.G., Zamora, A.G., Gonsebatt, M. E., Mata, E.M., Vargas, G.G.G., Rincón, E.Y.C., & Morales, R.P., (2018), Subacute intoxication with sodium nitrate induces hematological and biochemical alterations and liver injury in male Wistar rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Elsevier Inc., 166 (January), pp. 48–55.
- Ha, A. W., Ying, T., & Kim, W. K., (2015), The effects of black garlic (*Allium sativum*) extracts on lipid metabolism in rats fed a high fat diet, *Nutrition Research and Practice*, 9(1), pp. 30–36.
- Jeong, Y.Y., Ryu, J.H., Shin, J.H., Kang, M.J., Kang, J.R., Han, J., & Kang, D., (2016), Comparison of anti-oxidant and anti-inflammatory effects between fresh and aged black garlic extracts, *Molecules*, 21(4), pp. 1–15.
- Kendran, A.A.S., Arjana, A.A.G., & Pradnyantari, A.A.S.I., (2017), Aktivitas Enzim Alanine-Aminotransferase dan Aspartate Aminotransferase pada Tikus Putih Jantan yang Diberi Ekstrak Buah Pinang, *Buletin Veteriner Udayana*, (1), pp. 132–138.
- Kim, J.H., Nam, S.H., Rico, C.W., & Kang, M.Y., (2012), A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extracts, *International Journal of Food Science and Technology*, 47(6), pp. 1176–1182.
- Kim, M.J., Yoo, Y.C., Kim, H.J., Shin, S.K., Sohn, E.J., Min, A.Y., Sung, N.Y., & Kim, M.R., (2014), Aged black garlic exerts anti-inflammatory effects by decreasing NO and proinflammatory cytokine production with less cytotoxicity in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and LPS-induced septicemia mice, *Journal of Medicinal Food*, 17(10), pp. 1057–1063.
- Kumar, V., Abbas, A., & Aster, J., (2014), *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease 9th Edition*. Canada: Elsevier Health Science.
- Mphahlele, R.R., Fawole, O.A., Makunga, N.P., & Opara, U.L., (2016), Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), pp. 1–12.
- Park, C., Park, S., Chung, Y.H., Kim, G.Y., Choi, Y.W., Kim, B.W., & Cho, Y.H., (2014), Induction of apoptosis by a hexane extract of aged black garlic in the human leukemic U937 cells, 8(2), pp. 132–137.
- Fitria., Triandhini, R.I.N.K.R., Mangimbulude, J.C., & Karwur, F.F., (2013), Merokok dan Oksidasi DNA, *Juli-Desember*, 5(2), pp. 113–120.
- Salima, J., (2015), Antibacterial Activity of Garlic (*Allium sativum* L.). *J Majority*, 4 (2), pp. 30-39.
- Setyaningrum, N., & Soejoto, B., (2016) Pengaruh Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Var. Rubrum) Terhadap Kadar AST dan ALT Darah Tikus Setelah Paparan Asap Rokok, *Diponegoro Medical Journal*, 5(4), pp. 1389–1397.
- Unitly, A.J.A., Kusumorini, N., Agungpriyono, S., Satyaningtjas, A.S., & Boediono, A., (2014), Perubahan Kualitas Spermatozoa dan Jumlah Sel-Sel Spermatogenik Tikus yang Terpapar Asap Rokok, *Jurnal Kedokteran Hewan*, 8(2), pp. 8–11.
- Wang, D., Feng, Y., Liu, J., Yan, J., Wang, M., Sasaki, J., & Lu, C., (2010), Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance the Immune System, *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology* 4 (1), pp. 37-40.
- Widigdo, A. P., (2014), *The Effect of Graded Doses of Honey For Liver Micopic Appearance on Balb/C Mice Exposed Cigarette Smoke*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Yoo, J. M., Sok, D. E., & Kim, M. R., (2014), Anti-allergic action of aged black garlic extract in RBL-2H3 cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice, *Journal of Medicinal Food*, 17(1), pp. 92–102.