

BOBOT RELATIF ORGAN IMUN AYAM BROILER DENGAN METODE PEMBERIAN PROBIOTIK YANG BERBEDA

Lans Wiranto, Sri Sumarsih dan Bambang Sulistiyanto*

Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi email: bambangsulistiyanto@lecturer.undip.ac.id

Abstrak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh metode pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* dari isolat usus ayam terhadap bobot relatif organ imun. Bahan yang digunakan adalah ayam broiler Cobb unsex dengan berat badan rata-rata $46,97 \pm 8,5$ g dan *Lactobacillus Sp.* sebagai probiotik. Percobaan dilakukan dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) 4 perlakuan dan 5 ulangan. Ayam dikaitkan dengan perlakuan T0 = kontrol, T1 = probiotik (1 ml) + metode *force feeding*, T2 = probiotik (2 ml / 100 g pakan) + metode pemberian pakan, dan T3 = probiotik (2 ml / 100 ml dari air) + metode air minum. Parameter yang diamati adalah bobot relatif *bursa fabricius*, thimus dan limpa. Data dianalisis secara statistik oleh ANOVA pada taraf signifikansi 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode pemberian probiotik tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap berat relatif organ imun (*bursa fabricius*, thimus dan limpa) ayam broiler. Rata-rata bobot relatif dari *bursa fabricius* adalah 0,14%, 0,11%, 0,11% dan 0,11% (T0, T1, T2 dan T3), berat relatif Thimus adalah 0,24%, 0,23%, 0,22% dan 0,23% (T0, T1, T2 dan T3), sedangkan Limpa adalah 0,13%, 0,11%, 0,12% dan 0,12% (T0, T1, T2 dan T3). Disimpulkan bahwa *Lactobacillus Sp.* yang diisolat dari usus ayam yang diberikan dengan metode yang berbeda belum bisa sebagai probiotik.

Kata kunci: ayam broiler, *Lactobacillus Sp.*, organ imun

Abstract. The objective of the study was to determine the effects of administration methods of probiotic *Lactobacillus Sp.* from chicken intestinal isolates to the immuno-organs relative weight. The materials were unsexed Cobbs DOC with an initial body weight of 46.97 ± 8.5 g and probiotics *Lactobacillus Sp.* The experiment conducted by randomized block design (RBD) with 4 treatments and 5 replications. The chickens were associated to treatments i.e: T0 = control, T1 = probiotics (1 ml) by force-feeding, T2 = probiotics (2 ml/100 g of feed) in the feed, and T3 = probiotics (2 ml/100 ml of water) in the drinking water. Parameters observed were the relative weights of the bursa fabricius, thymus and spleen. Data were statistically analyzed by ANOVA at 5% of the significance level. Results showed that administration methods of probiotics do not provide any significant effect on the relative weight of immune organs i.e: bursa fabricius, thymus and spleen) of broiler chickens. The relative weight of bursal was 0.14%, 0.11%, 0.11% and 0.11% (T0, T1, T2 and T3), the thymus was 0.24%, 0.23%, 0.22% and 0.23% (T0, T1, T2 and T3), whereas the spleen was 0.13%, 0.11%, 0.12% and 0.12% (T0, T1, T2 and T3). It could be concluded that *Lactobacillus Sp.* isolated from chicken intestinal that administered by different method could not classified as probiotic.

Keywords: broiler chicken, *Lactobacillus Sp.*, immune organ.

PENDAHULUAN

Populasi ayam broiler di Indonesia menunjukkan trend peningkatan. Pada tahun 2017 sebesar 1.848.731.364 ekor meningkat menjadi 1.891.434.612 pada tahun 2018 (Badan Pusat Statistik, 2019). Kelemahan ayam broiler, yaitu memiliki daya tahan tubuh yang kurang baik, mudah stres dan terserang penyakit. Ayam broiler yang terserang penyakit dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan organ imun (bursa fabricius, thimus dan limpa), sehingga sistem imunitas akan mengalami penurunan. Sebelumnya telah banyak digunakan Antibiotic Growth Promotors (AGP) untuk meningkatkan produktivitas ternak. Keuntungan AGP yaitu dapat berperan untuk melawan agen penyakit melalui mekanisme modulasi mikroflora usus dengan penekanan bakteri patogen dan peningkatan penyerapan nutrisi pakan. Kekurangan dari AGP adalah dapat menyebabkan resisten pada mikroba dan menghasilkan residu sintetik pada daging ayam broiler, sehingga tidak aman untuk dikonsumsi manusia. Saat ini penggunaan AGP untuk unggas di Indonesia telah dilarang. Oleh karena itu, penggunaan probiotik merupakan salah satu upaya dalam menggantikan peran dari AGP.

Probiotik yang umum digunakan di industri peternakan unggas adalah bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, dan *Saccharomyces*. Probiotik merupakan bakteri asam laktat yang mampu membunuh bakteri patogen, sehingga dapat memperbaiki populasi mikroba pada saluran pencernaan dan dapat meningkatkan respon sistem imun ternak (Gao *et al.*, 2017). Keuntungan pemberian probiotik diantaranya adalah dapat menjaga keseimbangan mikroflora usus, meningkatkan penyerapan nutrisi pakan dan memperbaiki organ imun ternak. Efek pemberian probiotik dapat mempengaruhi kerja sistem imun pada organ bursa fabricius dan thimus melalui antibodi yang disekresikan oleh limfosit B dan limfosit T untuk melawan penyakit (Yan dan Polk, 2011). Bobot organ imun merupakan salah satu indikator kesehatan ternak. Menurut Mashayekhi *et al.* (2018) bahwa pemberian probiotik pada ayam broiler dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada ayam broiler, sehingga dapat mencegah dari agen penyakit dan dapat meningkatkan bobot relatif organ imun. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa metode force feeding, pemberian probiotik melalui pakan dan pemberian melalui air minum dapat memberi efek pada peningkatan bobot relatif organ bursa fabricius, thimus, limfa dan bobot badan (Sikandar *et al.*, 2017; Mubarak *et al.*, 2018).

Beberapa jenis probiotik yang diberikan pada ayam dengan metode yang berbeda yaitu pemberian *Bacillus subtilis* melalui pakan (Sikandar *et al.*, 2017) dan pemberian probiotik komersil melalui metode force feeding (Mubarak *et al.*, 2018) dan pemberian *Lactobacillus fermentum* melalui air minum (Rofi'i *et al.*, 2017). Probiotik dari bakteri *Lactobacillus Sp.* dapat tahan dalam

kondisi asam (pH 2 dan 3), tahan terhadap garam empedu 0,3% dan mampu melawan bakteri patogen (Shamsudin *et al.* 2019). Keunggulan lain dari *Lactobacillus* yaitu dapat meningkatkan kesehatan host melalui peningkatan keseimbangan mikroba dan imunitas usus (Shen *et al.*, 2014). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terkait pemberian *Lactobacillus Sp.* dari isolat usus ayam dengan metode yang berbeda (force feeding, melalui pakan dan air minum) pada ayam broiler.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui pengaruh metode pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* dari isolat usus ayam terhadap bobot relatif organ imun ayam broiler. Hipotesis penelitian adalah terdapat perbedaan bobot relatif organ imun ayam broiler setelah dilakukan pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* dari isolat usus ayam dengan metode yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Materi yang digunakan yaitu 200 ekor DOC ayam broiler strain Cobb dengan bobot badan rata-rata $46,97 \pm 8,5$ g/ekor yang dipelihara selama 30 hari. Probiotik *Lactobacillus Sp.* dari isolat usus ayam, kandang, pakan, air minum, alat suntik, tempat minum, timbangan ukur, mixer, pisau, plastik dan nampan digunakan selama penelitian.

Tahap penelitian dilakukan dengan 3 tahap yaitu persiapan, pemeliharaan dan penerapan. Tahap persiapan diawali dengan pembuatan probiotik di Laboratorium Teknologi Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. Pembuatan probiotik dengan cara isolasi bakteri asam laktat *Lactobacillus Sp.* dari usus ayam. Persiapan kandang dilakukan dengan cara membersihkan lantai kandang, tempat pakan dan tempat minum dengan menggunakan deterjen sampai bersih, kemudian dilakukan fumigasi kandang dengan formalin. Pakan yang digunakan yaitu pakan komersial BR-1 dan BR-1AJ tanpa Antibiotic Growth Promoters (AGP) dari PT. Charoen Pokphand Indonesia dengan kandungan nutrisi (Tabel 1.). Tahap pemeliharaan diawali dengan pemberian air minum berupa air gula untuk menggantikan energi DOC ayam broiler selama proses pengiriman, selanjutnya chick in DOC ayam broiler dengan membagi 10 ekor pada masing-masing pen. Pemberian pakan ayam broiler umur 1 sampai 30 hari dilakukan 2 kali pada pagi dan sore hari selama 30 hari seangkan air minum diberikan secara ad libitum.

Tabel 1. Kandungan Nutrisi BR-1 dan BR-1AJ

Komposisi	Proporsi	
	BR-1 (%)	BR-1AJ (%)
Kadar air	13	13
Protein	21-23	20,5-22,5
Lemak	5	5
Serat kasar	5	5
Abu	7	7
Kalsium	0,9	0,9
Fosfor	0,6	0,6

Sumber : Label Kandungan Nutrisi Pakan PT. Charoen Pokphand, Tbk.

Tahap Penerapan perlakuan pada ayam broiler dilakukan dari umur 1-30 hari. Metode pemberian probiotik untuk masing-masing perlakuan yaitu (T0) perlakuan kontrol (tanpa pemberian probiotik), (T1) pemberian probiotik 1 ml dengan metode force feeding 1 kali dalam 2 hari pada fase starter, sedangkan fase finisher 1 kali dalam 3 hari, (T2) pemberian probiotik dengan metode penambahan pada pakan (2 ml probiotik/100 g pakan) dan (T3) pemberian probiotik dengan metode penambahan pada air minum (2 ml probiotik/100 ml dari minum). Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan sehingga ada 20 unit percobaan, dan masing masing unit diisi 10 ekor. Perlakuan penelitian adalah sebagai berikut :

T0 : Perlakuan kontrol

T1 : Pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* dengan metode *force feeding*

T2 : Pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* dengan metode melalui pakan

T3 : Pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* dengan metode melalui air minum

Parameter penelitian yang diukur yaitu bobot relatif bursa fabricius, thimus dan limpa. Pengambilan data dilakukan pada saat ternak berumur 30 hari dengan parameter. Bobot relatif organ imun (bursa fabricius, thimus dan limpa) dihitung menggunakan rumus perhitungan dari Aprillia *et al.* (2018):

$$\text{Bobot relatif organ imun} = \frac{\text{bobot organ imun}}{\text{bobot badan}} \times 100\%$$

Data yang diperoleh kemudian diuji menggunakan analisis ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan pada taraf 5%. Perlakuan yang berpengaruh nyata, dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (Steel dan Torrie, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis bobot badan dan bobot relatif organ imun ayam broiler akibat pemberian *Lactobacillus Sp.* yang diisolasi dari usus dengan metode yang berbeda ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Bobot Badan dan Bobot Relatif Organ Imun Ayam Broiler

Variabel	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Bobot badan (kg)	1,13	1,13	1,14	1,10
<i>Bursa Fabricius</i> (%)	0,14	0,11	0,11	0,11
Thimus (%)	0,24	0,23	0,22	0,23
Limpa (%)	0,13	0,11	0,12	0,12

Keterangan: tidak berpengaruh nyata ($P < 0,05$)

Bobot Badan

Rata-rata bobot badan ayam broiler fase finisher secara berturut-turut yaitu (T0) 1,13 kg, (T1) 1,13 kg, (T2) 1,14 kg dan (T3) 1,10 kg. Hal tersebut menunjukkan bahwa bobot badan ayam broiler berada dibawah normal. Menurut Husna *et al.* (2017) bahwa ayam broiler strain cobb pada umur 30 hari memiliki rata-rata bobot badan sebesar 1,55 kg. Faktor yang berpengaruh terhadap tinggi rendahnya bobot badan ayam broiler adalah manajemen pemeliharaan yang buruk dan kondisi kesehatan ternak. Menurut Salam *et al.* (2019) bahwa faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertambahan bobot badan adalah manajemen pemeliharaan yang baik, konsumsi pakan, kualitas pakan, jenis kelamin dan penyakit. Mengingat pada penelitian ini, nutrisi pakan dan manajemen pemeliharaan telah dilakukan sesuai standar pemeliharaan. Oleh karena itu, kemungkinan *Lactobacillus Sp.* yang diberikan kurang efektif dalam peningkatan bobot badan ayam.

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa probiotik *Lactobacillus Sp.* yang berbeda tidak berpengaruh terhadap bobot badan ayam broiler. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* tidak direspon ayam broiler dengan baik, sehingga ayam broiler yang diberi probiotik dengan harapan menghasilkan bobot badan yang lebih tinggi tidak terwujud dalam penelitian ini. Berbeda dengan Hidayat *et al.* (2018) bahwa pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* melalui air minum pada ayam broiler strain cobb menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan bobot badan dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Penelitian lain dari Cao *et al.* (2013) bahwa pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* melalui pakan menghasilkan pengaruh yang signifikan dalam meningkatkan bobot badan ayam broiler dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan pemberian probiotik dengan metode force feeding menghasilkan bobot badan yang sama dengan perlakuan kontrol. Hal ini berbeda dengan penelitian Bidura *et al.* (2019) yang menyebutkan pemberian probiotik *Saccharomyces spp.* dengan metode force feeding pada itik menghasilkan bobot badan yang lebih tinggi. Hal tersebut dikarenakan probiotik *Lactobacillus Sp.* dapat memproduksi enzim selulase yang berperan untuk meningkatkan penyerapan nutrisi pakan pada saluran pencernaan, sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan ayam broiler

(Sugiharto *et al.*, 2013). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi efektifitas probiotik. Menurut Peric *et al.* (2010) efektifitas probiotik bergantung pada strain bakteri probiotik, konsentrasi probiotik, umur ayam dan kondisi lingkungan. Selain itu, pemberian probiotik melalui air minum dapat optimal jika air minum yang digunakan terhindar dari cemaran bakteri patogen (Torshizi *et al.*, 2010). Mengingat pakan, bibit dan manajemen pemeliharaan telah dilakukan sesuai standar baku pemeliharaan broiler, ketidakberhasilan penggunaan *Lactobacillus Sp.* terhadap peningkatan bobot badan perlu dilakukan kajian lebih lanjut.

Bobot Relatif Organ Imun

Berdasarkan pada Tabel 2. menunjukkan bahwa metode pemberian probiotik *Lactobacillus Sp.* yang berbeda pada ayam broiler tidak berpengaruh nyata terhadap bobot relatif organ imun yaitu bursa fabricius, thimus dan limpa. Hal ini menunjukkan bahwa penelitian ini berbeda dengan penelitian terdahulu, bahwa metode force feeding, pemberian probiotik melalui pakan dan pemberian melalui air minum dapat memberi efek pada peningkatan bobot relatif organ bursa fabricius, thimus, limfa dan bobot badan (Sikandar *et al.*, 2017; Mubarak *et al.*, 2018).

Pemberian *Lactobacillus Sp.* seharusnya dapat memberi efek dalam peningkatan imunitas ayam broiler. Menurut Shen *et al.* (2014) *Lactobacillus* dapat meningkatkan produksi dan respon imun pada ayam broiler melalui mekanisme modulasi mikroflora dalam usus. Menurut Shida *et al.* (2011) bahwa probiotik *Lactobacillus casei* Shirota dapat memodulasi produksi sitokin dari sel-sel epitel usus dan menghasilkan regulasi respon sel-sel imunokompeten (sel dendritik, sel makrofag, sel T dan sel B). Yang dan Polk (2011) menambahkan bahwa probiotik dapat mempengaruhi kerja sistem imun melalui antibodi yang disekresikan oleh limfosit B dan limfosit T, sehingga terjadi peningkatan bobot relatif organ imun. Pemberian probiotik optimal jika bakteri yang digunakan tahan dalam kondisi asam, tahan terhadap garam empedu dan mampu melawan bakteri patogen (Shamsudin *et al.*, 2019). Fauzi *et al.* (2018) menambahkan bahwa syarat bakteri dapat dijadikan sebagai probiotik yaitu harus tahan dalam lingkungan saluran pencernaan seperti kondisi adanya bakteri patogen, pH asam dan garam empedu. Faktor lain yang berpengaruh terhadap efektivitas *Lactobacillus Sp.* pada ayam broiler adalah manajemen pemeliharaan, lingkungan, nutrisi, strain probiotik, metode persiapan, dosis, komposisi makanan, umur ayam dan status kebersihan kandang (Lee *et al.*, 2010). Oleh karena itu, aspek tersebut harus diperhatikan agar pemberian probiotik dapat berpengaruh terhadap peningkatan bobot relatif organ imun ayam broiler.

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa bobot relatif organ imun pada masing-masing perlakuan berada pada kisaran normal, kecuali perlakuan kontrol pada parameter bobot relatif organ bursa fabricius. Menurut Aprillia *et al.* (2018) ukuran normal bobot relatif organ imun pada

ayam broiler, yaitu bursa fabricius 0,07-0,11%, thimus 0,18-0,25% dan limpa 0,11-0,15%. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan sebagai material probiotik maupun metode pemberian tidak mampu memperbaiki respon kekebalan tubuh ayam broiler. Menurut Sugiharto *et al.* (2013) bahwa pemberian probiotik dapat memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan organ imun. Terdapat faktor lain yang dapat mempengaruhi besar kecilnya organ imun. Pada organ bursa fabricius dipengaruhi oleh adalah umur dan lingkungan. Menurut Fajrih *et al.* (2014) bahwa besar kecilnya bobot relatif bursa fabricius dipengaruhi oleh respon stress terhadap lingkungan. Jamin (2012) menambahkan bursa fabricius pada ayam usia muda berkembang secara cepat dan mencapai ukuran maksimum pada umur 4-12 minggu. Besar kecilnya organ thimus dan limpa dipengaruhi oleh pemberian probiotik dan nutrien pakan. Menurut Jamilah *et al.* (2013) bahwa pakan atau nutrien sangat berpengaruh terhadap perkembangan organ limfoid. Pemberian probiotik pada pakan terjadi peningkatan produksi antibodi dikaitkan dengan besarnya organ limpa dan thimus (Naseem *et al.*, 2012). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian *Lactobacillus Sp.* dan metode pemberian yang berbeda tidak menunjukkan peran yang signifikan terhadap respon kekebalan dan perkembangan organnya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disimpulkan bahwa *Lactobacillus Sp.* yang diberikan dengan cara berbeda belum dapat berperan sebagai probiotik pada ayam broiler. Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut potensi viabilitas dan peran isolat *Lactobacillus Sp.* pada saluran pencernaan ayam broiler, agar peran sebagai probiotik dapat dioptimalkan.

REFERENSI

- Aprillia, N. D., U. Atmomarsono dan I. Isroli. 2018. Pengaruh Kepadatan Kandang yang Berbeda terhadap Bobot Organ Imun pada Ayam Broiler. *Agromedia*. 32 (2): 25 – 30.
- Badan Pusat Statistik. 2019. Populasi Ayam Ras Pedaging menurut Provinsi 2009-2018. Badan Pusat Statistik, Jakarta.
- Bidura, I.G.NG., N.W. Siti and I.B.G Partama. 2019. Effect of Probiotics, *Saccharomyces* spp. Kb-5 and Kb-8, in Diets on Growth Performance and Cholesterol Levels in Ducks. *South African Journal of Animal Science*. 49 (2): 220-226.
- Cao, G.T., X.F. Zeng, A.G. Chen, L. Zhou, L. Zhang, Y.P. Xiao and C.M. Yang. 2013. Effects of a Probiotic, *Enterococcus faecium*, on Growth Performance, Intestinal Morphology, Immune Response, and Cecal Microflora in Broiler Chickens Challenged with *Escherichia Coli* K88. *Poultry Science*. 92 (11): 2949-2955.
- Fajrih, N., N. Suthama and V.D Yuniarto. 2014. Body Resistance and Productive Performances of Crossbred Local Chicken Fed Inulin of Dahlia Tubers. *Media Peternakan*. 37 (2): 108-114.

- Fauzi, A.I., G.B. Pramana., M.Z. Asror dan D. Samsudewa. 2018. Uji Kelayakan Sinbiotik (*Lactobacillus Plantarum* dan Limbah Ekstraksi Temulawak) sebagai Upaya Produksi Sinbiotik Rendah Kolesterol. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. 13 (4) : 395-491.
- Gao, P., M. Cheng., Z. Sun., L. Wang., S. Huang., X. Su., Jian Xu and H. Zhang. 2017. Feed-Additive Probiotics Accelerate Yet Antibiotics Delay Intestinal Microbiota Maturation in Broiler Chicken. *Microbiome*. 5 (91): 1-14.
- Hidayat, M.N., R. Malaka., L. Agustina and W. Pakiding. 2018. Effect of *Lactobacillus Sp.* Probiotics on Intestinal Histology, *Escherichia coli* in Excreta and Broiler Performance. *Jurnal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 43 (4): 445-452.
- Husna, A., A.T.M. Badruzzaman., N.Y. Runa., S. Yesmin., N.S. Runa., M. Rahman and M.M. Mia. Evaluation of Productive Performance of Selected Broiler Strains Under Field Condition at Sylhet District of Bangladesh. *Annals of Veterinary and Animal Science*. 4 (4): 104-109.
- Jamilah, J., N. Suthama dan L.D. Mahfudz. 2013. Performa Produksi dan Ketahanan Tubuh Broiler yang Diberi Pakan Step Down dengan Penambahan Asam Sitrat sebagai Acidifer. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 18 (14): 251-257.
- Jamin, F. 2012. Akibat Infeksi *Candida albicans* dan Pemberian Kortikosteroid Menyebabkan Kondisi Imunosupresi Organ Bursa Fabricius pada Ayam Pedaging. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. 4 (2): 67-71.
- Lee, K.W., S.H. Lee., H.S. Lillehoj., G.X. Li., S.I. Jang., U.S. Babu., M.S. Park., D.K. Kim., E.P. Lillehoj., A.P. Neumann., T.G. Rehberger and G.R. Siragusa, G.R. 2010. Effects of Direct-Fed Microbials on Growth Performance, Gut Morphometry, and Immune Characteristics In Broiler Chickens. *Poultry Science*. 89: 203–216.
- Mashayekhi, H., M. Mazhari and O. Esmaeilipour. 2018. Eucalyptus Leaves Powder, Antibiotic and Probiotic Addition to Broiler Diets: Effect on Growth Performance, Immune Response, Blood Components and Carcass Traits. *Animal*. 12 (10): 2049-2055.
- Mubarak, P. R., L. D. Mahfudz dan D. Sunarti. 2018. Pengaruh Pemberian Probiotik pada Level Protein Pakan Berbeda terhadap Perlemakan Ayam Kampung. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. 13 (4): 357-364.
- Naseem, S., S.U. Rahman., M. Shafee., A.A. Sheikh and A. Khan. 2012. Immunomodulatory and Growth-Promoting Effect of a Probiotic Supplemented in The Feed of Broiler Chicks Vaccinated Against Infectious Bursal Disease. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 14 (2): 71-158.
- Peric, L., N. Milošević, D. Žikić, S. Bjedov, D. Cvetković, S. Markov, M. Mohn and T. Steiner. 2010. Effects of Probiotic and Phytogenic Products on Performance, Gut Morphology and Cecal Microflora of Broiler Chickens. *Archiv Tierzucht*. 53 (3): 350-359.
- Rofi'i, M., H. Sunaryo dan M. F. Wadjdi. 2017. Penambahan Probiotik *Lactobacillus fermentum* dalam Air Minum Terhadap Performans Produksi Broiler. *Dinamika Rekasatwa*. 2 (2): 1-7.
- Shamsudin, W.N.F., L.S. San., H.Y. Wan., N. Abdullah., W.Z. Saad dan W.K. Lian. 2019. Probiotic properties of *Lactobacillus* isolates from chicken intestines. *Journal of Biochemistry Microbiology and Biotechnology*. 7 (2): 8-13.
- Shen, X., Y. X. Ni., D. Zeng., B. Jing, M. Lei., Z. Bian., Y. Zeng., T. Li and J. Xin. 2014. Effects of *Lactobacillus plantarum* on Production Performance, Immune Characteristics, Antioxidant Status and Intestinal Microflora of Bursin-Immunized Broilers. *Canadian Journal of Microbiology*. 60 (4): 193-202.

- Sikandar, A., H. Zaneb., M. Younus., S. Masood., A. Aslam., M. Shah and H. Rehman. 2017. Growth Performance, Immune Status and Organ Morphometry in Broilers Fed Bacillus Subtilis-Supplemented Diet. *African Journal of Animal Science*. 47 (3): 378-388.
- Steel, R. G. D dan J. H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistik Suatu Pendekatan Biometrik. Cetakan ke-4. Gramedia, Jakarta.
- Sugiharto, A., A. Iriyanti dan S. Mugiyono. 2013. Penggunaan Berbagai Jenis Probiotik dalam Ransum terhadap Kecernaan Bahan Kering (KBK) dan Kecernaan Bahan Organik (KBO). *Jurnal Ilmu Peternakan*. 1 (3): 933-937.
- Torshizi, M.A.K., A.R. Moghaddam., S. Rahimi and N. Mojgani. 2010. Assessing The Effect of Administering Probiotics in Water or as A Feed Supplement on Broiler Performance and Immune Response. *British Poultry Science*. 51 (2): 178-184.
- Yan, F. and D. B. Polk. 2011. Probiotics and Immune Health. *Current Opinion in Gastroenterology*. 27 (6): 496-501.