

**PENGGUNAAN KALSIMUM ORGANIK MIKROPARTIKEL
DENGAN TAMBAHAN ASAM SITRAT TERHADAP
BOBOT ORGAN LIMFOID AYAM BROILER**

Ozalia Zulfa¹⁾ Fajar Wahyono²⁾ Nyoman Suthama³⁾

¹ Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro
email : zulfaozalia@gmail.com

² Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro
email: fjrwahyono@gmail.com

³ Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro
email: nsuthama@yahoo.com

Abstrak

Kalsium organik mikropartikel dari bahan dasar cangkang telur memiliki bioavailabilitas yang tinggi dan asam sitrat mampu menurunkan pH yang dapat mengurangi bakteri patogen sehingga penyerapan nutrisi lebih maksimal. Kombinasi keduanya pada daya tahan tubuh dan pertumbuhan ayam broiler akan diamati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan kalsium organik mikropartikel dalam ransum dengan tambahan asam sitrat sebagai *acidifier* terhadap bobot organ limfoid dan pertumbuhan ayam broiler. Materi penelitian yang digunakan adalah 160 ekor ayam broiler dengan 5 perlakuan yaitu: T0 (Ransum protein kasar 21%), T1 (Ransum protein kasar 18%), T2 (Ransum protein kasar 18% + Ca mikropartikel), T3 (Ransum protein kasar 18% + asam sitrat 1,2%), dan T4 (Ransum protein kasar 18% + Ca mikropartikel + asam sitrat 1,2%). Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah bobot relatif organ limfoid yaitu bursa fabricius, timus dan limpa serta pertambahan bobot badan harian (PBBH). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Masing-masing ulangan berisi 8 ekor ayam broiler. Data selanjutnya dianalisis ragam dengan probabilitas 5% dan dilanjutkan dengan uji Duncan apabila data menunjukkan perbedaan nyata. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan kalsium organik mikropartikel dalam ransum dengan tambahan asam sitrat berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap bobot relatif bursa fabricius, limpa dan PBBH, namun tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap bobot relatif timus. Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah penggunaan kalsium organik mikropartikel dalam ransum dengan suplementasi asam sitrat sebagai *acidifier* hanya dapat mempertahankan bobot bursa fabricius dan pertambahan bobot badan, tetapi menurunkan bobot limpa, sedangkan timus tidak.

Kata kunci : ayam broiler, organ limfoid, pertambahan bobot badan, asam sitrat, kalsium organik mikropartikel

Abstract

Microparticle organic-calcium from eggshell has high bioavailability, while citric acid can decrease the pH in the small intestine so nutrients can be absorbed maximally. The combination of both on growth and body resistance will be observed. This study aims to determine the effect of microparticle organic-calcium used in broiler feed with citric acid addition as an acidifier to the lymphoid organ relative weight and the growth of broiler chickens. The research used 160 broiler chickens with 5 treatments: T0 (21% crude protein feed), T1 (18% crude protein feed), T2 (18% crude protein feed+ microparticle Ca), T3 (18% crude protein ration + 1.2% citric acid), and T4 (18% crude protein ration + Ca microparticle + citric acid 1,2%). The relative weights of lymphoid organs, such as bursa fabricius, thymus and spleen and average daily gain (ADG) were parameters measured. The design of this research is completely randomized design with 5 treatments and 4 replications (8 broilers for each). The data were analyzed by 5% probability and continued with Duncan test if the data significantly different. The results, the use of microparticle organic-calcium in feed with citric acid addition significantly effects ($P < 0.05$) the relative weight of bursa fabricius, spleen and ADG, but does not significantly effect ($P > 0.05$) the relative weight of the thymus. In conclusion, the use of microparticle organic-calcium in feed with citric acid supplementation as acidifier can maintain the weight of bursa fabricius and ADG only, but reducing the weight of the spleen, while the thymus is not.

Keywords: broilers, lymphoid organs, daily gain, citric acid, microparticle organic-calcium

PENDAHULUAN

Populasi ayam ras pedaging (broiler) beberapa tahun terakhir terus mengalami peningkatan, sehingga kebutuhan ransum juga meningkat, di samping itu, ayam broiler pertumbuhannya cepat harus diimbangi dengan asupan protein yang tinggi dan juga kalsium untuk menunjang pertumbuhan tulang. Pemenuhan asupan protein yang tinggi harus diikuti dengan bahan sumber protein yang tinggi, sehingga harga ransum mahal. Apabila protein ransum diturunkan untuk mengurangi biaya, timbul kekhawatiran jika kekurangan asupan protein. Oleh karena itu, protein ransum diturunkan disertai dengan pemberian asam sitrat sebagai *acidifier* dalam upaya untuk merekayasa kondisi saluran pencernaan menjadi asam (pH rendah), sebagaimana diketahui bahwa penyerapan kalsium bersama-sama dengan protein dalam mekanisme *calcium binding protein* (CaBP) efektif terjadi pada kondisi pH rendah. Peningkatan kebutuhan kalsium pada fase awal pemeliharaan meningkatkan aktivitas *binding* pada duodenum, sehingga terjadi peningkatan CaBP dalam usus sebagai respon untuk memenuhi kebutuhan fisiologis kalsium (Wasserman dan Taylor, 1986). Penyerapan kalsium semakin baik karena pada penelitian ini menggunakan kalsium mikropartikel. Upaya untuk meningkatkan efisiensi penggunaan kalsium maka cangkang telur dibuat dalam bentuk tepung

dengan ukuran mikropartikel. Penambahan asam sitrat mampu menurunkan pH usus sehingga pertumbuhan bakteri patogen terhambat yang berdampak pada peningkatan imunitas pada usus, yang ada kaitannya dengan peningkatan ketersediaan nutrisi (Tolba, 2010)

Cangkang telur digunakan sebagai sumber kalsium (Ca) pada penelitian ini dengan pertimbangan harga murah dan limbah yang tidak dimanfaatkan. Cangkang telur dapat diperoleh dari limbah pabrik produksi roti dan kue dan memiliki bobot 9-12 % dari bobot keseluruhan telur dengan kandungan 94% CaCO_3 , 1% KPO_3 , dan 1% MgCO_3 (Rahmawati dan Nisa, 2015). Kalsium (Ca) organik mikropartikel yang dikombinasikan dengan asam sitrat sebagai *acidifier* mampu menurunkan pH saluran pencernaan. pH rendah meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) dan menurunkan populasi bakteri patogen sehingga saluran pencernaan menjadi sehat dan penyerapan nutrisi menjadi lebih tinggi. Penyerapan nutrisi yang maksimal, terutama kalsium berimplikasi terhadap meningkatnya daya tahan tubuh yang dilihat dari bobot relatif organ limfoid yaitu bursa fabricius, timus dan limpa. Kalsium berperan dalam memelihara sistem saraf dan otot, sebagai aktivator enzim serta dibutuhkan dalam pembekuan darah, yaitu untuk mengubah protombin menjadi trombin (Underwood, 1966). Tujuan penelitian adalah untuk mengkaji pengaruh penggunaan kalsium organik mikropartikel dari cangkang telur dengan tambahan asam sitrat sebagai *acidifier* terhadap bobot organ limfoid dan pertumbuhan ayam broiler.

METODE PENELITIAN

Ternak yang digunakan dalam penelitian adalah 160 ekor ayam broiler dengan bobot badan awal 52 ± 5 gram. Bahan penyusun ransum meliputi jagung giling, bekatul, bungkil kedelai, tepung ikan, tepung cangkang telur, asam sitrat, CaCO_3 , vitamin dan mineral dengan 2 level protein kasar 21% dan 18% serta energi metabolis yang sama yaitu 3000 kkal/kg (Tabel 1).

Metode penelitian diawali dengan pembuatan tepung cangkang. Cangkang telur yang didapat dari limbah pabrik roti dicuci bersih. Cangkang telur kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 1- 2 hari. Cangkang telur yang telah kering dihaluskan, selanjutnya diayak kemudian ditambah aquades dengan perbandingan 1 : 3 dan disonifikasi menggunakan *sonificator*. Dilanjutkan dengan pengujian partikel menggunakan *particle size analyzer* (PSA) sehingga diperoleh ukuran mikropartikel 1,064 μm .

Ayam broiler dipelihara selama 42 hari pada kandang baterai sehingga konsumsi setiap ekor dapat diukur. Selama 7 hari pertama ayam diberi ransum berupa pakan komersial dengan kandungan protein kasar 21% (BR 11). Selanjutnya, pada umur 8 hingga 14 hari ayam diadaptasikan dengan ransum basal protein kasar 18%. Selama adaptasi ayam diberi ransum secara bertahap, yaitu 25% ransum basal : 75% pakan komersial umur 8 – 9 hari, 50% ransum basal: 50% pakan komersial umur 10 – 11 hari, 75% ransum basal : 25% pakan komersial umur 12 – 13 hari dan 100% ransum basal umur 14 hari. Mulai umur 15 hari ayam diberi ransum perlakuan (T0, T1, T2, T3, dan T4). Ransum perlakuan yang digunakan sebagai berikut:

T0 = ransum dengan protein kasar 21%

T1 = ransum dengan protein kasar 18%

T2 = ransum dengan protein kasar 18% dan Ca mikropartikel

T3 = ransum dengan protein kasar 18% + asam sitrat 1,2%

T4 = ransum dengan protein kasar 18% dan Ca mikropartikel + asam sitrat 1,2%

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Masing-masing ulangan berisi 8 ekor ayam broiler.

Bobot relatif organ limfoid meliputi bobot bursa fabricius, limpa dan timus ditimbang pada hari ke-42 setelah dipotong untuk memperoleh karkas. Bobot organ limfoid dihitung dengan rumus:

$$\text{Bobot organ limfoid (\%)} = \frac{\text{Bobot organ (g)}}{\text{Bobot hidup (g)}} \times 100$$

Pertambahan bobot badan ditimbang setiap minggu mulai diberi ransum perlakuan (umur 15 hari) hingga umur 42 hari. Data yang diperoleh kemudian dianalisis ragam dengan uji F pada taraf probabilitas 5% dan dilanjutkan dengan uji wilayah berganda (uji Duncan) apabila perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata.

Tabel 1. Formulasi ransum penelitian

Bahan Pakan	Komposisi (%)				
	T0	T1	T2	T3	T4
Jagung Giling	46,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Bekatul	16,00	19,00	19,00	19,00	19,00
Bungkil Kedelai	27,00	23,50	23,50	23,50	23,50
Tepung Ikan	10,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Tp. Cangkang Telur	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00
1p. Cangkang telur Mikropartikel	0,00	0,00	2,00	0,00	2,00
CaCO ₃	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00
Premiks	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100	100	100	100	100
Kandungan Nutrien* :					
Energi Metabolis (kkal/kg)**	2962,55	2907,68	2907,68	2907,68	2907,68
Protein Kasar	21,30	18,18	18,18	18,18	18,18
Lemak Kasar	2,87	2,14	2,14	2,14	2,14
Serat Kasar	4,57	4,45	4,45	4,45	4,45
Kalsium	1,03	1,29	1,29	1,29	1,29
Fosfor	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
Metionin***	0,45	0,35	0,35	0,35	0,35
Lisin***	1,37	1,05	1,05	1,05	1,05
Arginin***	1,52	1,26	1,26	1,26	1,26

*Dianalisis di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro (2017)

** EM (kkal/kg) = 40,81 [0,87 (protein kasar + 2,25 x lemak kasar + BETN) + k] (Balton, 1967 dalam Siswohardjono, 1995)

***Berdasarkan Tabel dari Komposisi Bahan Makanan Ternak untuk Indonesia (Hartadi dkk., 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bobot relatif bursa fabricius, limpa dan pertambahan bobot badan (PBBH) nyata dipengaruhi oleh perlakuan (Tabel 1). Bobot relatif bursa fabricius pada perlakuan protein kasar 18% (T1) paling rendah dan berbeda dengan kontrol (T0), tetapi tidak berbeda dengan perlakuan lainnya. Namun, untuk bobot limpa, perlakuan kombinasi kalsium organik mikropartikel dan asam sitrat (T4) paling rendah dan nyata dengan T0 dan T1, tetapi tidak dengan yang lainnya. Berbeda halnya dengan PBBH, perlakuan kombinasi kalsium organik dan asam sitrat (T3) sama dengan T1, tetapi berbeda nyata dengan T0 dan T4.

Perlakuan T1 menghasilkan bobot relatif bursa fabricius lebih rendah dibanding kontrol (T0). Hal ini terjadi karena level protein kasar pada perlakuan T1 rendah (18%) sehingga tidak dapat mendukung perkembangan bursa fabricius dengan maksimal. Protein berperan dalam pembentukan antibodi, semakin tinggi protein yang diserap tubuh pembentukan antibodi juga semakin maksimal. Tizard (1988) menyatakan bahwa antibodi tersusun atas molekul protein yang dapat dibedakan berdasarkan kelarutannya dalam garam, muatan elektrostatis, berat molekul, dan struktur antigennya.

Perlakuan T1 menghasilkan bobot relatif bursa fabricius lebih rendah dibandingkan T2, T3, dan T4, hal ini menunjukkan bahwa semua perlakuan kombinasi memperlihatkan pengaruh yang baik terhadap bobot relatif bursa fabricius. Kombinasi kalsium organik dan asam sitrat mampu meningkatkan bobot relatif bursa fabricius hingga 14% dan sama dengan kontrol (T0). Bursa fabricius merupakan organ dalam sistem imun yang berperan dalam menghasilkan limfosit B sebagai antibodi. Bursa fabricius yang mengecil mengindikasikan ayam sedang mengalami cekaman atau sedang melakukan perlawanan terhadap patogen yang masuk ke dalam tubuh. Tubuh ayam mengeluarkan hormon kortikosteron sebagai respon ketika mengalami cekaman. Hormon kortikosteron dapat menghambat pertumbuhan bursa fabricius. Penambahan asam sitrat sebagai *acidifier* dalam ransum perlakuan berperan melindungi bursa fabricius dari pengaruh hormon kortikosteron, sehingga bursa fabricius tidak mengalami atrofi. Bikrisima dkk. (2013) menyatakan bahwa *acidifier* mampu meningkatkan imunitas humoral, yaitu dengan melindungi bursa fabricius dari hormon kortikosteron dan glukokortikoid yang dihasilkan ketika ayam mengalami cekaman. Menurut Tizard (1988) ternak yang memiliki bobot bursa fabricius yang membesar dari sebelumnya cenderung lebih tahan terhadap cekaman. Pernyataan ini sejalan dengan Jamilah dkk. (2013) bahwa penambahan *acidifier* dalam ransum terbukti mampu meningkatkan imunitas ayam broiler yang ditandai dengan peningkatan bobot bursa fabricius.

Tabel 2. Bobot organ limfoid dan produktivitas ayam broiler

Perlakuan	Bursa fabricius	Timus	Limpa	PBBH
	-----%-----			
T0	0,158 ^a	0,249	0,179 ^{ab}	38,943 ^a
T1	0,112 ^b	0,300	0,182 ^a	36,130 ^{bc}
T2	0,134 ^{ab}	0,277	0,163 ^{abc}	37,493 ^{ab}
T3	0,132 ^{ab}	0,296	0,148 ^{bc}	34,681 ^c
T4	0,135 ^{ab}	0,320	0,141 ^c	38,426 ^a

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$).

Penambahan asam sitrat sebagai *acidifier* terbukti memberikan pengaruh yang lebih baik pada kondisi cekaman. *Acidifier* mampu menurunkan bakteri patogen dan meningkatkan bakteri asam laktat (BAL) sehingga penyerapan nutrisi terutama kalsium menjadi lebih baik, terlebih penelitian menggunakan kalsium organik mikropartikel. Peningkatan absorpsi kalsium juga mempengaruhi penyerapan protein dalam mekanisme *calcium binding protein* (CaBP) yang berperan dalam perkembangan organ limfoid. Syafitri dkk. (2015) mengemukakan bahwa protein dalam usus diserap bersama dengan kalsium melalui mekanisme CaBP.

Pengaruh penggunaan kalsium organik dan asam sitrat mulai nampak pada perlakuan T2, T3, dan T4 yaitu menurunkan bobot relatif limpa (Tabel 2). Penurunan bobot relatif limpa terjadi karena pengaruh penggunaan kalsium organik dan *acidifier*. Bobot relatif limpa pada penelitian terutama T2, T3 dan T4 berada dalam kisaran normal. Toghyani dkk. (2011) melaporkan bahwa bobot relatif limpa ayam berkisar antara 0,13% - 0,16%. Penggunaan kalsium organik mikropartikel dalam ransum dapat dimanfaatkan lebih maksimal dan penyerapan oleh tubuh meningkat, sehingga kesehatan organ limfoid tetap terjaga. Asam sitrat sebagai *acidifier* mampu menurunkan pH usus. pH rendah menyebabkan bakteri patogen menurun dan bakteri asam laktat (BAL) meningkat, sehingga saluran pencernaan menjadi sehat dan mengurangi cekaman. Mustafa dkk. (2014) menyatakan asam sitrat mampu menurunkan bakteri patogen dalam saluran pencernaan dan mengurangi dampak negatif dari cekaman panas. Menurut Mine (2008), kalsium organik halus dapat diserap lebih banyak oleh tubuh yaitu sebesar 34,8% dibandingkan kalsium organik kasar 21,3%, sehingga avabilitas kalsium dalam tubuh semakin tinggi.

Pertambahan bobot badan (PBBH) pada perlakuan menggunakan kalsium organik mikropartikel (T2 dan T4) nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan menggunakan kalsium organik biasa (T1 dan T3) dan sama dengan kontrol (T0). Penggunaan kalsium organik mikropartikel dalam ransum mampu mempertahankan bobot badan harian. Guinotte dan Nys (1990) menyatakan bahwa partikel kalsium yang halus dapat meningkatkan konsumsi dan memperbaiki konversi pakan. Asam sitrat yang dikombinasikan dengan kalsium organik mikropartikel membantu penyerapan kalsium dalam ikatan Ca-sitrat sehingga kalsium dalam plasma darah meningkat. Kalsium dalam plasma darah yang tinggi dapat meningkatkan penyerapan protein lebih optimal sehingga berimbas pada peningkatan PBBH. Boling-Frankenbach dkk., (2001) berpendapat bahwa kalsium dalam ikatan kalsium

sitrat lebih mudah diserap oleh tubuh dan dapat meningkatkan pemanfaatan fosfor (P) serta mengurangi ekskresi fosfor (P).

Perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) pada bobot relatif timus. Bobot relatif timus T0, T1, T2, T3, dan T4 secara berturut-turut adalah 0,25%; 0,30%; 0,28%; 0,30%; dan 0,22%. Nilai tersebut relatif sama dengan bobot relatif timus normal, menurut Zhang dkk. (2013) rentang bobot relatif timus normal adalah 0,26% - 0,38%. Hal ini menunjukkan bahwa timus pada setiap perlakuan belum berperan penuh dalam tubuh karena produksi antibodi masih dapat dipenuhi oleh bursa fabricius. Erf dkk. (1998) menyatakan bahwa antigen tertentu mampu mengaktifkan sel B yang dihasilkan oleh bursa fabricius secara langsung tanpa harus menunggu sinyal dari sel T.

Timus merupakan organ kekebalan tubuh primer yang berperan dalam menghasilkan sel limfosit T. Frandson dkk. (2007) mengemukakan bahwa timus terletak di dekat vena jugularis dan esofagus dan akan mengecil ketika ayam telah dewasa, namun tidak pernah rudimenter secara keseluruhan. Perkembangan dan kerja timus dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain cekaman panas yang dapat menyebabkan immunosupresi. Immunosupresi merupakan pelemahan sistem kekebalan tubuh yang ditandai dengan adanya gangguan komponen dan pertumbuhan organ limfoid (bursa fabricius, timus dan limpa). Umam (2012) menyatakan cekaman panas menyebabkan organ limfoid mengalami immunosupresi.

KESIMPULAN

Penggunaan kalsium organik mikropartikel dalam ransum dengan suplementasi asam sitrat hanya dapat mempertahankan bobot bursa fabricius dan pertambahan bobot badan, tetapi menurunkan bobot limpa, sedangkan timus tidak.

REFERENSI

- Bikrisima, S. H. L., L. D. Mahfudz, dan N. Suthama. 2013. Ketahanan tubuh ayam broiler pada kondisi tropis yang diberi jambu biji merah (*Psidium guajava*) sebagai sumber antioksidan. *Agromedia* 31: 46-57.
- Boling-Frankenbach, S. D., J. L. Snow, C. M. Parsons, D. H. Baker. 2001. The effect of citric acid on the calcium and phosphorus requirements of chicks fed corn-soybean meal diets. *J. Poult. Sci.* 80: 783-788.
- Erf, G. F., W. G. Bottje, dan T. K. Bersi. 1998. CD4, CD8 and TCR defined T-cell subsets in thymus and spleen of 2- and 7-week old commercial broiler chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 62: 339-348.
- Frandsen, R. D., W. L. Wilke dan A. D. Fails. 2007. *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. Wiley-Blackwell Publishing, Iowa. P. 277-282.
- Guinotte, F. dan Y. Nys. 1990. The effects of particle size of calcium carbonate on performance and ossification characteristics in broiler chicks. *J. Poult. Sci.* 70: 1908-1920.
- Hartadi, H., S. Reksohadiprojo dan A.D. Tillman. 2005. *Tabel dari Komposisi Bahan Makanan Ternak untuk Indonesia*. UGM Press, Yogyakarta.
- Jamilah, N. Suthama, dan L. D. Mahfudz. 2013. Performa produksi dan ketahanan tubuh broiler yang diberi pakan step down dengan penambahan asam. *JITV* 18 (4): 251 – 257.
- Mine, Y. 2008. *Egg Bioscience and Biotechnology*. Wiley-Interscience Publication, New Jersey. P. 129-135.
- Mustafa, M. A. G. H., M. Sulaiman dan L. Salahaddin. 2014. Effect of acetic acid added to drinking water of two broiler strains on performance and small intestine histological. *J. Diyala Agric. Sci.* 6 (1): 1-8.
- Rahmawati, W. A. dan F. C. Nisa. 2015. Fortifikasi kalsium cangkang telur pada pembuatan cookies. *J. Pangan dan Agroindustri* 3 (3): 1050-1061.
- Siswohardjono, W., 1982. Beberapa Metode Energi Metabolis Bahan Makanan Ternak pada Itik. Makalah Seminar Fakultas Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Syafitri, Y. E., V. D. Yunianto dan N. Suthama. 2015. Pemberian ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica Less*) dan klorin terhadap massa kalsium dan massa protein daging pada ayam broiler. *J. Anim. Agric.* 4 (1): 155-164.
- Tizard, I. 1988. *Pengantar Immunologi Veteriner*. 3rd Ed. Terjemahan M. Partodiredjo. Airlangga University Press, Surabaya.
- Toghyani, M., M. Toghyani., A. Gheisari, G. Ghalamkari dan S. Eghbalseid. 2011. Evaluation of cinnamon and garlic as antibiotic growth promoter substitutions on performances,

immune responses, serum biochemical and haematological parameters in broiler chicks. *J. Livest. Sci.* 138: 167-173.

Tolba, A. A. H. 2010. Reduction of broiler intestinal pathogenic micro-flora under normal or stressed condition. *Egypt. Poult. Sci.* 30 (1): 249-270.

Umam, A. A. C. 2012. Hematologi, malondealdehida plasma darah, dan bobot organ limfoid broiler yang diberi ransum mengandung biji ketumbar (*Coriandrum sativum l.*). *Skripsi*. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Wasserman, R. H. dan A. N. Taylor. 1968. Vitamin D-dependent calcium binding protein. *J. Bio. Chemist.* 243 (14): 3987-3993.

Underwood, E. J. 1981. *The Mineral Nutrition of Livestock*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough.

Zhang, Z. F., J. F. Cho dan L. H. Kim. 2013. Effects of *Bacillus subtilis* UBT-MO2 on growth performances, relative immune organ weight, gas concentration in excreta, and intestinal microbial shedding in broiler chickens. *J. Livest. Sci.* 155: 343-347.