



**PENGARUH PENAMBAHAN PROBIOTIK *Rhizopus oryzae* TERHADAP TOTAL MIKROBA USUS HALUS DAN SEKA AYAM KAMPUNG PERIODE *GROWER***  
*(The Effect of Probiotic Rhizopus Oryzae Administration on The Total Number of Microbes in The Small Intestine and Caeca of Kampoeng Chickens During The Grower Period)*

**K. D. Pratiwi, Sugiharto dan T. Yudiarti\***

Program Studi S-1 Peternakan

Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

\*fp@undip.ac.id

**ABSTRAK**

Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh penambahan probiotik *Rhizopus oryzae* ayam kampung terhadap jumlah total mikroba yang ada pada usus halus dan seka ayam kampung periode *grower*. Penelitian dilaksanakan pada tanggal 11 Agustus–11 Oktober 2014 di kandang ayam, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Materi yang digunakan adalah *Day Old Chick (DOC)* ayam kampung sebanyak 100 ekor (*unsexed*) dengan bobot badan  $37,90 \pm 1,36$  g. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diuji adalah dosis probiotik *Rhizopus oryzae* terdiri atas T0(kontrol), T1 (penambahan 0,1% probiotik *Rhizopus oryzae*) dan T2 (penambahan 0,2% probiotik *Rhizopus oryzae*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian probiotik *Rhizopus oryzae* dalam ransum berpengaruh terhadap total mikroba usus halus dan seka ayam kampung periode *grower* tetapi berpengaruh terhadap pertumbuhan bobot badan harian ayam kampung umur 0-9 minggu. Pertumbuhan bobot badan harian tertinggi pada perlakuan T1 dan tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap T2 tetapi berbeda nyata terhadap ( $P < 0,05$ ) T0. Kesimpulan penelitian adalah penambahan *Rhizopus oryzae* dengan dosis 0,1% dan 0,2% pada pakan ayam kampung belum dapat meningkatkan jumlah total mikroba pada usus halus dan seka ayam kampung periode *grower*, tetapi dapat meningkatkan pertambahan bobot badan harian ayam kampung umur 0-9 minggu dan yang tertinggi pada penambahan dosis 0,1% probiotik *Rhizopus oryzae*.

Kata kunci: Probiotik; fungi; mikroba; produktivitas; ayam kampung

**ABSTRACT**

The purpose of this study was to investigate the effect of probiotic *Rhizopus oryzae* administration on the total number of microbes in the small intestine and caeca of kampoeng chickens during the grower period. The study was conducted on 11 August to 11 October 2014 in the poultry farm at the Faculty of Animal and Agricultural Sciences, Diponegoro University. The materials used in this study were 100 Day Old Chick (DOC) (*unsexed*) with initial body weight of  $37.90 \pm 1.36$  g. The experiment was set as Completely Randomized Design (CRD). The treatments consisted of T0 (control), T1 (0.1% addition of probiotic *Rhizopus oryzae* to the diet) and T2 (0.2% addition of probiotic *Rhizopus oryzae* to the diet). The results showed that addition of probiotic *Rhizopus oryzae* in the diet did not affect ( $P > 0.05$ ) the total number of microbes in the small intestine and caeca of chicken during the grower period, but affected ( $P < 0.05$ ) the daily gain of chicken within 0-9 weeks. The highest daily gain was observed in T1 which was not different ( $P > 0.05$ ) from T2 but different ( $P < 0.05$ ) from T0. The conclusion of this study was the administration of *Rhizopus oryzae* with a dose of 0.1 % and 0.2 % in the chicken diet did not increase the total number of microbes in the small intestine and caeca of kampoeng chickens during the grower period, but

the addition of *Rhizopus oryzae* could increase the daily gain at 0-9 weeks of age, at which the highest impact was observed when *Rhizopus oryzae* was added at 0.1 %.

Keywords: Probiotic; fungi; microbe; productivity; kampung chicken

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki beberapa jenis ayam bukan ras (buras) yang dapat menjadi ternak unggulan yaitu memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan dan tidak mudah terserang penyakit (Rahayu *et al.*, 2011). Keunggulan lain adalah citarasa daging yang berbeda dengan ayam broiler karena kandungan proteinnya yang lebih tinggi (Hidayah *et al.*, 2013). Salah satu jenis ayam buras adalah ayam kampung. Populasi ayam kampung tergolong yang paling besar dari populasi ayam buras yang lain. Menurut Direktorat Jenderal Peternakan (2010), populasi ayam kampung di Indonesia mencapai 261.398.127 ekor pada tahun 2009. Pemeliharaan ayam kampung masih bersifat sambilan sehingga produktivitasnya relatif masih rendah dan angka kematian khususnya anak ayam cukup tinggi (Widodo, 2010).

Upaya untuk meningkatkan produktivitas dan menurunkan angka kematian pada anak ayam, pola pemeliharaan secara intensif dapat menjadi alternatif. *Antibiotic growth promoters* (AGPs) sudah lazim digunakan pada sistem pemeliharaan secara intensif untuk meningkatkan kesehatan dan merangsang pertumbuhan. Namun penggunaan antibiotik tersebut menjadi kontroversi, karena menimbulkan resistensi bakteri yang ada pada tubuh unggas, membunuh mikroba dalam proses pencernaan unggas dan residu yang tertinggal pada daging (Hidayah *et al.*, 2013). Fakta tersebut mendorong negara-negara maju untuk melarang penggunaan AGPs pada budidaya unggas (Sugiharto, 2014). Meskipun belum dilarang, kesadaran mengenai dampak negatif dari AGPs juga telah berkembang di Indonesia sejak dekade lalu, sehingga alternatif pengganti antibiotik sangat dibutuhkan oleh peternak.

Berbagai alternatif pengganti antibiotik telah diteliti, salah satunya adalah probiotik. Probiotik adalah kultur tunggal atau campuran mikroorganisme dapat berasal dari tubuh ternak itu sendiri yang berguna untuk menjaga keseimbangan populasi mikroorganisme dalam saluran pencernaan (Kabir, 2009). Probiotik yang berasal dari tubuh ternak merupakan aditif pakan yang alami, dapat bekerja sesuai tempat tinggalnya karena didapatkan dari inang itu sendiri dan tidak membahayakan ternak dan juga konsumen (Murwani, 2008). Probiotik yang banyak digunakan saat ini termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat. Selain itu probiotik dapat juga berasal dari spesies fungi atau khamir (Sugiharto, 2014).

Fungi merupakan mikroorganisme yang mempunyai tingkat resisten yang tinggi dan dapat hidup pada kondisi yang kurang menguntungkan serta mudah dikembang biakkan. Fungi sangat bermanfaat bagi pencernaan protein dan serat seperti selulosa dan hemiselulosa, karena menghasilkan enzim protease dan selulaseserta dapat membentuk koloni pada jaringan selulosa pakan. Rhizoid fungi tumbuh jauh menembus dinding sel selulosa pakan sehingga pakan lebih mudah untuk dicerna enzim (Sudarmono, 2013).Salah satu spesies yang dapat dijadikan probiotik adalah *Rhizopus oryzae* yang merupakan golongan fungi filamentus (Yudiarti *et al.*, 2012).

Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh penambahan probiotik *Rhizopus oryzae* dalam ransum ayam kampung terhadap jumlah total mikroba di dalam usus halus dan seka ayam kampung. Hipotesis penelitian ini adalah penambahan probiotik *Rhizopus oryzae* dalam ransum ayam kampung dapat meningkatkan jumlah total mikroba usus halus dan seka ayam kampung periode grower.

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 11 Agustus – 11 Oktober 2014 di kandang ayam, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.Materi yang digunakan dalam penelitian ini *Day Old Chick* (DOC) ayam kampung PT. Tirta Hartono, Sleman, Yogyakarta sebanyak 100 ekor dengan bobot badan awal  $37,90 \pm 1,36$  g. Komposisi ransum dapat dilihat pada Tabel 1 dengan penambahan probiotik *Rhizopus oryzae* dengan dosis 0%, 0,1% dan 0,2%. Kandang yang digunakan adalah kandang *battery*, tempat pakan, tempat minum, plastik, pH meter, timbangan digital, *cent to gram*, cawan petri, oven, autoklaf, *Erlenmeyer*, kentang, agar dan *dextrose*, *colony counter*, pipet dan tabung reaksi.

Penelitian dibagi menjadi 3 tahap yaitu persiapan, pelaksanaan dan pengambilan data. Persiapan dilakukan mulai dari pembiakan *Rhizopus oryzae* dan pembuatan sediaan kultur kering probiotik.Persiapan lainnya meliputi pengadaan bahan pakan, persiapan kandang, penyiapan *brooder*, penyekatan kandang sesuai perlakuan, persiapan perlengkapan pemeliharaan dan pembelian *DOC* ayam kampung.

Tahap pelaksanaan dimulai dari *chick in*, setiap petak kandang diisi 6 ekor ayam dan dilengkapi dengan masing-masing 1 buah tempat makan dan minum. Ransum perlakuan diberikan sejak awal dengan dosis pemberian probiotik berbeda-beda yaitu 0%, 0,1% dan 0,2%. Setiap 1 g kultur probiotik kering yang ditambahkan dalam ransum terkandung koloni fungi *Rhizopus oryzae* sebanyak  $5,2 \times 10^2$  cfu.

Tabel 1. Komposisi dan Kandungan Nutrien Ransum

Bahan Pakan	Persentase
	----- % -----
Jagung giling	35
Bekatul	46
Tepung ikan	18
Tepung cangkang kerang	1
Jumlah	100
EM (kkal/kg)	3215,32
Kadar air	10,01
Protein	15,76
Lemak	14,91
Serat kasar	5,27
Abu	13,08
Kalsium	2,00
Phosphor	1,32

Sumber: Hasil analisis Laboratorium *Feedtech* PT. Charoen Pokphand, Tbk, Makasar, 2014.

Tahap pengambilan data dilaksanakan setelah ayam kampung berumur 2 bulan. Sampel ayam diambil sebanyak 15 ekor, masing-masing perlakuan dan ulangan diambil 1 ekor. Usus halus dan seka kemudian diambil digestanya jugadilakukan pengukuran pH menggunakan pH meter. Sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan uji total mikroba dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Koloni yang terbentuk dihitung menggunakan *colony counter*.

### Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Setiap unit ulangan penelitian terdiri dari 5 ekor ayam. Perlakuan penelitian terdiri dari :

- T0 = Ransum tanpa penambahan probiotik *Rhizopus oryzae* (kontrol)
- T1 = Ransum + 0,1% penambahan probiotik *Rhizopus oryzae*
- T2 = Ransum + 0,2% penambahan probiotik *Rhizopus oryzae*

Data hasil penelitian diolah secara statistik menggunakan analisis ragam, apabila ada pengaruh nyata dilanjutkan uji wilayah ganda Duncan pada taraf 5% (Steel and Torrie, 1995).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Total Bakteri Usus Halus dan Seka Ayam Kampung Periode *Grower*

Jumlah total bakteri dalam usus halus dan seka ayam kampung periode *grower* pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan

penambahan *Rhizopus oryzae* tidak berpengaruh terhadap total bakteri dalam usus halus dan seka ayam kampung periode *grower*.

Tabel 2. Jumlah Total Bakteri pada Usus Halus dan Seka Ayam Kampung pada Berbagai Perlakuan

Ulangan	Perlakuan					
	Usus halus			Seka		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
	-----cfu/g-----					
U1	1,4x10 <sup>6</sup>	2,1x10 <sup>6</sup>	2,0 x 10 <sup>6</sup>	7,7 x 10 <sup>5</sup>	5,7 x 10 <sup>5</sup>	4,0 x 10 <sup>5</sup>
U2	3,9x10 <sup>5</sup>	2,2x10 <sup>6</sup>	1,1 x 10 <sup>6</sup>	5,1 x 10 <sup>5</sup>	3,1 x 10 <sup>5</sup>	6,6 x 10 <sup>6</sup>
U3	6,7x10 <sup>5</sup>	6,9x10 <sup>5</sup>	7,8 x 10 <sup>5</sup>	8,8 x 10 <sup>5</sup>	3,8 x 10 <sup>5</sup>	4,8 x 10 <sup>5</sup>
U4	1,7x10 <sup>6</sup>	1,4x10 <sup>6</sup>	1,1 x 10 <sup>6</sup>	1,9 x 10 <sup>6</sup>	3,9 x 10 <sup>5</sup>	8,4 x 10 <sup>5</sup>
U5	8,8x10 <sup>6</sup>	3,0x10 <sup>6</sup>	1,2 x 10 <sup>6</sup>	1,3 x 10 <sup>6</sup>	8,3 x 10 <sup>5</sup>	4,5 x 10 <sup>5</sup>
Rata-rata	2,6x10 <sup>6</sup>	1,9x10 <sup>6</sup>	1,2 x 10 <sup>6</sup>	1,1 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>5</sup>	1,8 x 10 <sup>6</sup>

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penambahan *Rhizopus oryzae* dengan dosis 0,1% dan 0,2% belum dapat meningkatkan populasi total bakteri pada saluran pencernaan ayam. Kondisi tersebut diperkuat oleh data pH usus halus dan seka ayam kampung periode *grower* yang tidak berpengaruh. Rata-rata pH usus halus T0 adalah 5,4, T1 adalah 5,6 dan T2 adalah 5,8 sedangkan rata-rata pH seka T0 adalah 5,6, T1 adalah 5,6 dan T2 adalah 5,8. Pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim pencernaan sangat dipengaruhi oleh pH seperti yang dikemukakan oleh Widodo (2010) bahwa perkembangan berbagai mikroba dalam saluran pencernaan dan efektifitas proses pencernaan sangat dipengaruhi oleh kondisi pH pada setiap bagian saluran pencernaan karena enzim dan produk yang disekresi memiliki karakteristik tertentu dan memiliki sensitivitas terhadap pH.

Penambahan *Rhizopus oryzae* tidak berpengaruh pada jumlah koloni total bakteri pada usus halus dan seka. Hal ini disebabkan karena probiotik yang diberikan dalam bentuk kultur kering *Rhizopus oryzae* hanya memiliki jumlah koloni fungi 5,2 x 10<sup>2</sup> cfu/g, sedangkan yang direkomendasikan adalah jumlah kolonisasi probiotik yaitu 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> cfu/g. Sudarmono (2013) menambahkan bahwa hasil penggunaan probiotik pada ayam tidak langsung terlihat, sehingga untuk mencapai keseimbangan antara mikroorganisme probiotik dan mikroflora yang tinggal dalam usus dosis yang direkomendasikan untuk probiotik yaitu 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> cfu/g.

Meskipun hasil analisis ragam pada total bakteri tidak berpengaruh, pemberian probiotik *Rhizopus oryzae* pada Tabel 5 menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap pertambahan bobot badan harian ayam. Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan probiotik dapat menjaga populasi mikroorganisme di saluran pencernaan dalam keadaan yang kondusif. Huyghebaert *et al.* (2011) menjelaskan bahwa pemberian probiotik pada ternak

dimaksudkan untuk menjaga keseimbangan ekosistem di dalam usus, memperbaiki struktur dinding sel saluran pencernaan, peningkatan ketahanan terhadap bakteri patogen, meningkatkan pertumbuhan bobot badan dan memperbaiki sistem imunitas ayam. Kabir (2009) menyatakan bahwa saat mikroorganisme di saluran pencernaan dalam keadaan seimbang ternak mampu menggunakan pakan dengan efisien untuk perbaikan performa ternak itu sendiri.

### Total Fungi Usus Halus dan Seka Ayam Kampung Periode *Grower*

Jumlah total fungi dalam usus halus dan seka ayam kampung periode *grower* pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan penambahan *Rhizopus oryzae* berpengaruh terhadap total fungi dalam usus halus dan seka ayam kampung periode *grower*.

Tabel 3. Jumlah Total Fungi pada Usus Halus dan Seka Ayam Kampung pada Berbagai Perlakuan

Ulangan	Perlakuan					
	Usus halus			Seka		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
	-----cfu/g-----					
U1	$4 \times 10^4$	$6 \times 10^4$	$1 \times 10^4$	$1 \times 10^4$	$6 \times 10^4$	$1 \times 10^4$
U2	$4 \times 10^4$	$1 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$2 \times 10^4$	$3 \times 10^4$	$6 \times 10^4$
U3	$1 \times 10^4$	$3 \times 10^4$	$6 \times 10^4$	$2 \times 10^4$	$1 \times 10^4$	$1,9 \times 10^5$
U4	$8 \times 10^4$	$1 \times 10^4$	$1,8 \times 10^5$	$6 \times 10^4$	$3 \times 10^4$	$5 \times 10^4$
U5	$1 \times 10^4$	$2 \times 10^4$	$2 \times 10^4$	$2 \times 10^4$	$3 \times 10^4$	$5 \times 10^4$
Rata-rata	$3,6 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	$8,6 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$	$7,2 \times 10^4$

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penambahan *Rhizopus oryzae* dengan dosis 0,1% dan 0,2% belum dapat meningkatkan populasi total fungi pada saluran pencernaan ayam, tetapi rata-rata jumlah total fungi pada usus halus dan seka mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya pemberian dosis *Rhizopus oryzae*, meskipun secara statistik tidak berpengaruh. Jumlah populasi mikroorganisme dalam saluran pencernaan sangat dipengaruhi dari jenis pakan yang diberikan. Total fungi dalam usus halus dan seka mengalami peningkatan karena adanya penambahan fungi dalam pakan yaitu probiotik yang diberikan dalam bentuk kultur kering *Rhizopus oryzae* yang merupakan golongan fungi berfilamen. Murwani (2008) menjelaskan bahwa jenis pakan yang diberikan sangat mempengaruhi jumlah populasi mikroorganisme dalam saluran pencernaan. Yudiarti *et al.* (2012) menyatakan bahwa fungi filamentus dapat merangsang pertumbuhan villi pada usus dan meningkatkan fungi pada usus, dan hal itu memberikan pengaruh positif untuk produktivitas ayam. Hal ini bisa dilihat pada data pertumbuhan bobot badan harian ayam meningkat (Tabel 5).

Meskipun total fungi pada usus halus dan seka meningkat namun dari hasil analisis statistik tidak berbeda nyata. Hal ini dikarenakan probiotik yang diberikan dalam bentuk kultur kering *Rhizopus oryzae* hanya memiliki jumlah koloni fungi  $5,2 \times 10^2$  cfu/g. Sudarmono (2013) menjelaskan bahwa untuk mencapai keseimbangan antara probiotik dan mikroflora yang tinggal di dalam usus, dosis yang direkomendasikan yaitu  $10^6$ - $10^7$  cfu/g.

### **Pertambahan Bobot Badan Harian Ayam Kampung (Umur 0-9 Minggu)**

Pertambahan bobot badan harian ayam kampung pada masing-masing perlakuan umur 0-9 minggu dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Jumlah Pertambahan Bobot Badan Harian Ayam Kampung Umur 0-9 Minggu pada Berbagai Perlakuan

Ulangan	Perlakuan		
	T0	T1	T2
	----- g/ekor/hari-----		
U1	4,58	6,66	6,62
U2	5,21	6,85	6,51
U3	5,79	6,36	6,37
U4	5,84	6,15	6,02
U5	6,17	6,49	6,46
Rata-rata	5,52 <sup>b</sup>	6,50 <sup>a</sup>	6,40 <sup>a</sup>

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).

Hasil perhitungan analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan *Rhizopus oryzae* pada pakan ayam kampung hingga umur 9 minggu berpengaruh nyata terhadap pertambahan bobot badan harian. Hasil uji wilayah ganda duncan menunjukkan bahwa T2 tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan T1, T2 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan T0 dan T1 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan T0.

Penambahan probiotik *Rhizopus oryzae* dengan dosis 0,1% mampu meningkatkan pertambahan bobot badan harian 6,50 g/ekor/hari dan dosis 0,2% mampu meningkatkan pertambahan bobot badan harian 6,40 g/ekor/hari, sedangkan pertambahan bobot badan harian pada kelompok kontrol hanya 5,52 g/ekor/hari. Peningkatan bobot badan harian ayam kampung pada penelitian ini dimungkinkan karena terjadinya peningkatan aktivitas mikroba menguntungkan di saluran pencernaan untuk menghasilkan enzim-enzim pencernaan sehingga membantu pencernaan dan pakan dapat digunakan secara maksimal untuk pertumbuhan bobot badan harian. Redha dan Fatmawati (2012) menyatakan bahwa penambahan probiotik ke dalam pakan akan membantu pencernaan sehingga efisiensi pemanfaatan pakan akan meningkat. Mikroba yang ada di saluran pencernaan akan menghasilkan enzim yang dibutuhkan untuk proses pencernaan. Enzim mikroflora usus sangat berpengaruh pada pencernaan pakan khususnya selulosa. Penggunaan probiotik secara

langsung meningkatkan efektivitas mikroba usus yang kemudian meningkatkan pertumbuhan. Nugroho *et al.* (2013) menjelaskan bahwa *Rhizopus sp* mampu mensekresikan berbagai macam enzim ekstraseluler yaitu protease, amilase dan lipase yang dapat menghidrolisis substrat makromolekul dalam biji kedelai dan bekatul menjadi senyawa monomer atau lebih sederhana sehingga lebih mudah diserap dan disintesis dalam saluran pencernaan.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, simpulan yang dapat diambil adalah penambahan *Rhizopus oryzae* dengan dosis 0,1% dan 0,2% pada pakan ayam kampung belum dapat meningkatkan jumlah total mikroba pada usus halus dan seka ayam kampung periode *grower*, akan tetapi dapat meningkatkan pertambahan bobot badan harian ayam kampung umur 0-9 minggu dan untuk hasil yang tertinggi pada penambahan dosis 0,1% probiotik *Rhizopus oryzae*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Jenderal Peternakan. 2010. Statistik Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Hidayah, N., R. B. Gobel, M. N. Djide, M. S. Hassan. 2013. Pengaruh penambahan variasi konsentrasi starter probiotik pada pakan terhadap perkembangan ayam kampung *Gallus domesticus*. Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makasar. p 1-9 (<http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/3940/Jurnal%20Nurul%20Hidayah.pdf?sequence=1>).
- Huyghebaert, G., Ducatelle, R., Van Immerseel, F., 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *J. Vet.* (187) : 182–188.
- Kabir, S.M.L., 2009. The role of probiotics in the poultry industry. *Int.J. Mol. Sci.* (10) : 3531–3546.
- Murwani, R. 2008. Aditif Pakan Aditif Alami Pengganti Antibiotika. Universitas Negeri Semarang Press, Semarang.
- Nugroho, A. P., I. Murni W., E. Reftiana Z. dan A. S. Harti. 2013. Tempe bekatul kitosan sebagai biosuplemen prebiotik sehat alami bagi ibu hamil. p 10-14 (Prosiding SNST ke-4, Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang).
- Rahayu, I., T. Sudaryani dan H. Santosa. 2011. Panduan Lengkap Ayam. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Redha, E. Dan Fatmawati. Probiotik<sup>SAR</sup> (*Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae* dan *Rhizopus oryzae*) sebagai pakan berkualitas guna meningkatkan pertumbuhan ikan betok (*Anabas testudineus* Bloch). Torani, Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan, 22 (3) : 163 - 173.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. (Diterjemahkan oleh : B. sumantri).

- Sudarmono. 2013. Probiotik untuk Perikanan, Peternakan dan Pertanian. Pustaka Baru Press, Yogyakarta.
- Sugiharto, S. 2014. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. J. Saudi Soc. Agric. Sci. p 1-13. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2014.06.001>).
- Widodo, E. 2010. Nutrisi dan Teknik Pemeliharaan Ayam Organik. Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Yudiarti, T., V. D. Yunianto B.I, R. Murwani dan E. Kusdiyantini. The effect of *Chrysonilia crassa* additive on duodenal & caecal morphology, bacterial and fungal number, and productivity of ayam kampung. Int. J. Sci. and Eng., 3 (2) : 26 – 29.