

## PENGARUH PROBIOTIK TERHADAP KOLESTEROL DARAH PADA AYAM PETELUR (*LAYER*)

### *Effect of Probiotik on Blood Cholesterol in Laying Hens*

Sumardi<sup>1\*</sup>, Sutyarso<sup>1</sup>, Gregorius Nugroho Susanto<sup>1</sup>, Tintin Kurtini<sup>3</sup>, Madi Hartono<sup>3</sup>, dan Rr. Etty Puspitaningsih N.W.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Bandar Lampung

<sup>2</sup>Program Studi Magister Biologi Universitas Lampung, Bandar Lampung

<sup>3</sup>Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Bandar Lampung

\*Corresponding author: sumardi\_bio@yahoo.co.id

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh probiotik terhadap kolesterol darah pada ayam petelur. Materi yang digunakan adalah ayam petelur betina *strain* Isa Brown umur 43 minggu dan ransum dengan menggunakan probiotik. Dalam penelitian ini digunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan probiotik lokal dengan berbagai konsentrasi yaitu ransum tanpa probiotik (P0), ransum + 1% probiotik lokal (P1), ransum + 2% probiotik lokal (P2), dan ransum + 3% probiotik lokal (P3) dengan lima kali ulangan dan setiap ulangan terdiri atas dua ekor ayam. Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah kolesterol darah ayam petelur yang terdiri atas kolesterol total, *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL), trigliserida, dan jumlah leukosit. Kadar kolesterol total pada P0; P1; P2; dan P3 masing-masing adalah 129,00±38,26; 116,00±26,53; 121,00±33,72; 137,00±52,53 mg/dl ( $P>0,05$ ). Kadar HDL pada P0; P1; P2; dan P3 masing-masing adalah 50,60±16,47; 35,80±11,28; 59,40±19,74; 56,80±30,56 mg/dl ( $P>0,05$ ). Kadar LDL pada P0; P1; P2; dan P3 masing-masing adalah 100,20±49,53; 39,20±17,14; 104,60±51,23; dan 96,80±66,22 mg/dl ( $P>0,05$ ). Kadar trigliserida pada P0; P1; P2; dan P3 masing-masing adalah 862,00±355,5; 533,00±146,10; 829,00±242,6; dan 810,00±304,00 mg/dl ( $P>0,05$ ). Jumlah leukosit pada P0; P1; P2; dan P3 masing-masing adalah 22,00±1,72; 21,00±3,79; 31,00±3,99; dan 34,00±3,55  $\times 10^3 \text{ mm}^3$  ( $P<0,01$ ). Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa pemberian probiotik lokal tidak memengaruhi kadar kolesterol darah ayam petelur.

Kata kunci: kolesterol darah, leukosit, probiotik lokal

#### ABSTRACT

The aim of this research was to find out the effect of probiotic on blood cholesterol in laying hens. Materials used were laying hens (Isa Brown strain) 43 weeks old and ration using probiotics. This research was conducted by using completely randomized design (CRD). The advanced research was done with testing the local probiotic with various concentration treatment, they are P0 (ration without probiotic), P1 (ration + 1% local probiotic), P2 (ration + 2% local probiotic), and P3 (ration + 3% local probiotic) with 5 time repetitions and in every repetitions consists of 2 chicken. Variables that were observed in the advance research were laying hens's blood cholesterol that consists of total cholesterol, high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), triglycerides, and total leucocyte. The level of total cholesterol on P0, P1, P2, and P3 were 129.00±38.26, 116.00± 26.53, 121.00±33.72, and 137.00±52.53 mg/dL ( $P>0.05$ ) respectively; the HDL level were 50.60±16.47, 35.80±11.28, 59.40±19.74; 56.80±30.56 mg/dL ( $P>0.05$ ); the LDL level were 100.20±49.53, 39.20±17.14, 104.60±51.23, and 96.80±66.22 mg/dL ( $P>0.05$ ), respectively; the triglycerides level were 862.00±355.5, 533.00±146.1, 829.00±242.6, and 810.00±304 mg/dL ( $P>0.05$ ), respectively; and leucocyte count were 22.00±1.72, 21.00±3.79, 31.00±3.99, and 34.00±3.55  $\times 10^3 \text{ mm}^3$  ( $P<0.01$ ), respectively. In conclusion, the administration of local probiotic do not effect the blood cholesterol of layer chicken.

Key words: blood cholesterol, leucocyte, local probiotics

#### PENDAHULUAN

Kolesterol adalah salah satu komponen lemak yang dibutuhkan tubuh dan berperan dalam pembentukan hormon, anak ginjal, testis, dan ovarium. Kolesterol merupakan produk metabolisme hewan dan terdapat dalam makanan dari hewan seperti kuning telur, daging, hati, dan otak. Secara normal, kolesterol diproduksi tubuh dalam jumlah yang tepat, tetapi dapat meningkat jumlahnya karena penambahan makanan yang berasal dari lemak hewani. Kolesterol dalam tubuh terutama diperoleh dari hasil sintesis di hati (Murray *et al.*, 2012).

Dewasa ini, kesadaran masyarakat akan kesehatan semakin tinggi. Masyarakat membutuhkan bahan pangan asal hewani khususnya unggas dengan kandungan rendah lemak dan kolesterol. Bahan makanan yang mengandung kolesterol tinggi dapat menyebabkan gejala pankreatitis, pembesaran hati, dan

meningkatkan konsentrasi *very low density lipoprotein* (VLDL) yang kemudian akan meningkatkan risiko arteriosklerosis yang menyebabkan berbagai penyakit seperti stroke, jantung koroner, dan kematian (Wijaya *et al.*, 2013). Oleh karena itu, perlu upaya menjadikan produk ternak yang rendah kolesterol serta meningkatkan produksi ternak pada ayam. Salah satu upaya untuk mencapai tujuan tersebut adalah dengan penambahan probiotik dalam ransum ayam.

Probiotik merupakan organisme hidup yang bila dikonsumsi dapat meningkatkan kesehatan manusia atau ternak dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan (Kusumawati *et al.*, 2003). Probiotik merupakan imbuhan pakan yang mengandung mikroba hidup yang keberadaannya dapat memperbaiki keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan (Daud *et al.*, 2007). Probiotik dapat diberikan secara oral pada hewan dalam bentuk tablet, cairan, atau pasta (Hardiningsih, 2006). Liong dan Shah

(2005) menyatakan bahwa *Bacillus* sp. dapat mensintesis enzim lipase untuk memecah lemak menjadi asam lemak dan trigliserida sehingga kadar kolesterol dalam tubuh dapat turun. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan suatu kajian untuk mengetahui pengaruh probiotik terhadap kolesterol darah dan jumlah leukosit pada ayam petelur.

## MATERI DAN METODE

Hewan uji dalam penelitian ini adalah ayam petelur strain Isa Brown betina, umur 43 minggu. Probiotik yang digunakan adalah probiotik lokal (*Saccharomyces* sp., *Bacillus* sp., dan *Rhizopus* sp.). Dalam penelitian ini digunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan probiotik lokal dengan berbagai konsentrasi yaitu ransum tanpa probiotik (P0), ransum + 1% probiotik lokal (P1), ransum + 2% probiotik lokal (P2), dan ransum + 3% probiotik lokal (P3) dengan lima kali ulangan dan setiap ulangan terdiri atas dua ekor ayam. Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah kolesterol darah ayam petelur yang terdiri atas kolesterol total, *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL), trigliserida, dan jumlah leukosit.

Sampel darah ayam diambil sebanyak 2 ml, dimasukkan ke dalam tabung darah yang mengandung *ethylen-diamine-tetraacetic-acid* (EDTA) untuk menghindari pembekuan darah, kemudian disimpan dalam termos es untuk dilakukan analisis di laboratorium. Prosedur penetapan kadar kolesterol lengkap darah ayam menggunakan fotometer dengan metode *cholesterol oxidase-peroxidase aminoantipyrine phenol* (CHOD-PAP) dengan panjang gelombang 546 dan suhu 37° C, sedangkan prosedur penghitungan sel darah putih (leukosit) dengan metode hemositometer menggunakan larutan Turk.

### Analisis Data

Seluruh data penelitian dianalisis menggunakan analisis varian satu arah.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida, dan leukosit pada ayam petelur disajikan pada Tabel 1. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian probiotik tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap kadar kolesterol darah.

Pada penelitian ini perlakuan P0, P1, P2, dan P3 tidak memberikan pengaruh terhadap kolesterol darah ayam petelur. Hal ini diduga konsentrasi pemberian probiotik lokal dalam ransum masih terlalu rendah, karena belum adanya perubahan pada rasio LDL dan HDL, sehingga belum merubah kadar kolesterol. Pemberian probiotik dari mikroba lokal yaitu bakteri *Bacillus* sp. belum optimal dalam meningkatkan penyerapan nutrisi dan memproduksi enzim *bile salt hydrolase* (BSH). Enzim BSH dapat menurunkan kadar kolesterol darah dan enzim lipase menurunkan kadar trigliserida darah tanpa meninggalkan residu (Ljungh *et al.*, 2005). Perubahan tingkat kolesterol dalam darah merupakan respons yang berhubungan dengan perubahan derajat asam lemak bebas pada pakan, karena asam lemak bebas akan diubah menjadi asil ko-A yang akan berubah menjadi asetil ko-A yang merupakan prekursor utama pembentukan kolesterol (Lovita, 2005). Bakteri probiotik juga mempunyai kemampuan dalam mensintesis enzim esterase bersamaan dengan enzim lipase yang merubah asam lemak bebas menjadi bentuk ester yang berbeda dari trigliserida pada saluran pencernaan (Mahdavi *et al.*, 2005).

Kadar kolesterol darah masih dalam kisaran yang normal yaitu 116-137 mg/l. Kolesterol normal darah ayam petelur adalah 52-148 mg/dl (Basmacioglu dan Ergul, 2005). Pemberian probiotik lokal belum berfungsi optimal karena terhambatnya penyerapan nutrisi pakan dengan meningkatnya produksi lendir yang dihasilkan sel goblet yang terbentuk dari dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*). Di samping itu, perbedaan respons inang terhadap probiotik yang dipengaruhi oleh beberapa hal yakni jenis atau strain bakteri yang digunakan, tingkat ketahanan bakteri terhadap kondisi ternak, umur spesies inang, dan lingkungan tempat penyimpanan bakteri sebelum digunakan (Fuller, 1992). KOMPIANG (2009) menyatakan kemampuan kerja probiotik dalam saluran pencernaan menunjukkan kinerja optimal jika diberikan pada ternak muda.

Rerata kadar trigliserida darah ayam petelur berkisar antara 533-862 mg/dl. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian probiotik lokal tidak berpengaruh nyata terhadap kadar trigliserida darah ayam petelur ( $P > 0,05$ ). Penambahan probiotik lokal 0, 1, 2, dan 3% memberikan respons yang relatif sama. Pemberian *S. cerevisiae* sebagai imbuhan mikroba hidup ke dalam tubuh akan memengaruhi keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan (Ahmad,

**Tabel 1.** Rata-rata kolesterol total, *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL), trigliserida, dan jumlah leukosit pada darah ayam petelur

Perlakuan	Kolesterol total (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	Trigliserida (mg/dl)	Leukosit ( $\times 10^3$ mm <sup>3</sup> )
P0 (ransum kontrol (tanpa probiotik))	129,00±38,26	50,60±16,47	100,20±49,53	862,00±355,50	22,00±1,72 <sup>a</sup>
P1 (ransum + probiotik)	116,00±26,53	35,80±11,28	39,20±17,14	533,00±146,10	21,00±3,79 <sup>a</sup>
P2 (ransum + probiotik 2%)	121,00±33,72	59,40±19,74	104,60±51,23	829,00±242,60	31,00±3,99 <sup>b</sup>
P3 (ransum + probiotik 3%)	137,00±52,53	56,80±30,56	96,80±66,22	810,00±304,00	34,00±3,55 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ )

2008) yaitu dengan adanya penekanan pertumbuhan mikroba patogen dalam usus. Dinding sel *S. cerevisiae* mengandung karbohidrat berbasis manosa yang dapat meningkatkan jumlah vili usus dan jumlah sel goblet, sehingga produksi lendir juga bertambah. Lendir yang dihasilkan berfungsi melindungi permukaan usus dari bahan pakan yang kasar dan bakteri patogen, tetapi dapat menyebabkan terhambatnya penyerapan nutrisi pakan (Brummer *et al.*, 2010).

Kadar trigliserida darah pada ketiga perlakuan dan kontrol memberikan hasil yang sangat tinggi. Kisaran normal trigliserida adalah <150 mg/dl (Basmacioglu dan Ergul, 2005). Menurut Santoso dan Piliang (2004) umur ayam memengaruhi kandungan trigliserida di dalam serum darah. Semakin tinggi umur maka kandungan trigliseridanya semakin meningkat. Umur ayam pada saat pengambilan sampel darah pada penelitian ini 43 minggu sehingga kadar trigliserida sangat tinggi.

Menurut Santoso *et al.* (1995) pemberian probiotik dapat menurunkan trigliserida karena probiotik secara efektif dapat menurunkan aktivitas asetil KoA karboksilase, yaitu enzim yang berperan dalam laju sintesis asam lemak. Faktor-faktor yang memperbesar sintesis trigliserida dan sekresi VLDL oleh hati adalah makanan yang banyak mengandung karbohidrat, sirkulasi asam lemak bebas yang tinggi, kadar insulin yang tinggi, dan kadar glukagon yang rendah (Murray, 2012). Solichedi *et al.* (2003) menyatakan bahwa sebelum sampai ke hati, trigliserida dari kilomikron dapat juga digunakan oleh jaringan otot atau jaringan lain atau disimpan dalam jaringan adiposa.

Hasil rerata HDL darah ayam petelur adalah 35,80-59,40 mg/dl. Hasil analisis statistik menunjukkan pemberian probiotik berpengaruh tidak nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kadar HDL. Rerata kadar HDL lebih dari kisaran normal. Kisaran HDL normal yaitu >22 mg/dl (Basmacioglu dan Ergul, 2005). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Suryo *et al.* (2012), menunjukkan HDL berkisar 40,5-50,4 mg/dl. Kadar HDL yang meningkat menunjukkan terdapat respons dari perlakuan yang diberikan. Menurut Hartini dan Okid (2009), kadar HDL yang tinggi mencegah terjadinya risiko aterosklerosis dengan cara mengangkut kolesterol dari jaringan perifer menuju hepar dan mengurangi kolesterol yang berlebihan. Menurut Murray *et al.* (2012), HDL merupakan lipoprotein yang mengangkut lipid dari perifer menuju ke hepar.

Molekul HDL relatif kecil dibandingkan lipoprotein lain, sehingga dapat melewati sel endotel vaskular dan masuk ke dalam intima untuk mengangkut kembali kolesterol yang terkumpul dalam makrofag. Selain itu, HDL juga mempunyai sifat anti-oksidasi sehingga dapat mencegah terjadinya oksidasi LDL. Kadar HDL dipengaruhi oleh lingkungan dan genetik, antara lain pakan yang diberikan (Hartini dan Okid, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan probiotik lokal pada penelitian ini cenderung meningkatkan kadar HDL darah.

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar LDL adalah 39,20-104,60 mg/dl. Pemberian probiotik

berpengaruh tidak nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kadar LDL darah ayam petelur. Hal ini menunjukkan pemberian probiotik lokal 0, 1, 2, dan 3% dalam ransum tidak berpengaruh terhadap LDL darah ayam petelur. Pada penelitian ini LDL masih dalam kisaran normal. Kadar LDL normal menurut Basmacioglu dan Ergul (2005) adalah <130 mg/dl.

Fita (2007) melaporkan bahwa kadar LDL darah pada unggas berkisar 35,40-62,07 mg/dl. Probiotik yang diberikan dapat dimanfaatkan secara optimal dengan mengeluarkan enzim lipoprotein lipase mengatalis gliserol dan asam lemak hingga LDL mengalami perombakan. Pemberian probiotik lokal dapat meningkatkan kadar kolesterol baik (HDL) dan berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol jahat (LDL).

Rerata leukosit ayam petelur pada masing-masing perlakuan berkisar antara 20,88-33,96 x 10<sup>3</sup> mm<sup>3</sup> (Tabel 1) dan masih dalam kisaran normal. Pada ayam jumlah leukosit normal berkisar antara 16-40 ribu/mm<sup>3</sup> (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998). Hasil analisis statistik menunjukkan pemberian probiotik berpengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap jumlah leukosit ayam. Pemberian probiotik lokal 3% memberikan hasil yang paling tinggi dibandingkan pemberian probiotik 0, 1, dan 2%. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian probiotik dengan konsentrasi tinggi dapat meningkatkan sistem imunitas tubuh sehingga ayam dapat menghasilkan leukosit lebih banyak. memiliki peran untuk meningkatkan kesehatan ternak.

Peran probiotik terhadap kesehatan ternak untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Fuller, 1992). Pemberian probiotik 2 dan 3% mampu meningkatkan jumlah leukosit. Hal ini diduga adanya bakteri *Bacillus* sp. yang dapat menurunkan mikroba patogen di dalam saluran pencernaan dan meningkatkan mikroba yang bermanfaat. Penggunaan probiotik juga untuk mengurangi/mencegah terjadinya kontaminasi penyakit terutama tifus terhadap produk-produk seperti daging dan telur, sehingga tetap higienis dan aman untuk dikonsumsi sesuai dengan standar kesehatan (Patterson dan Burkholder, 2003).

*Saccharomyces cerevisiae* yang berkoloni di dalam usus berperan sebagai imunostimulan yang di dalamnya terdapat beta-D glukukan yang berasal dari dinding sel *S. cerevisiae*. Komponen tersebut mempunyai sebuah campuran unik dengan efektivitas dan intensitasnya sebagai suatu sistem pertahanan tubuh melalui aktivasi sel darah putih yang spesifik seperti makrofag dan sel *natural killer* (NK). Beta-D glukukan akan berikatan dengan permukaan sel makrofag dan sel NK dan berfungsi sebagai pemicu untuk proses aktivasi makrofag (Life Source Basics, 2002). Proses ini dapat menghambat bakteri patogen dan sebagai imunostimulan tubuh sehingga dapat meningkatkan jumlah leukosit. Faktor genetik juga berperan menentukan jumlah leukosit, selain faktor lingkungan, infeksi, dan pakan (Lestari *et al.*, 2013). Asli *et al.* (2007) melaporkan bahwa, probiotik *yeast S. cerevisiae* yang dikombinasi dengan vitamin E dan C mampu meningkatkan daya tahan tubuh unggas.

Probiotik berperan dalam kesehatan ternak terutama untuk meningkatkan kekebalan melalui penurunan populasi mikroba patogen di dalam saluran pencernaan dan meningkatkan mikroba yang bermanfaat. Jika probiotik berfungsi dengan baik, maka mikroba yang bermanfaat akan terkendali sehingga probiotik mampu menstimulasi sistem imun. Selain itu, pemberian probiotik dapat menghambat pertumbuhan sel kanker usus melalui peningkatan aktivitas IgA dan sel makrofag (Perdigon *et al.*, 1986).

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa pemberian probiotik lokal tidak memengaruhi kadar kolesterol darah ayam petelur.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R.Z. 2008. Pemanfaatan cendawan untuk meningkatkan produktivitas dan kesehatan ternak. **Jurnal Litbang Pertanian**. 27(3):1-9.
- Asli, M.M., S.A. Hosseini, H. Lotfollahian, and F. Shariatmadari. 2007. Effect of probiotics, yeast, vitamin E and vitamin C supplements on performance and immune response of laying hen during high environmental temperature. **Int. J. Poult. Sci.** 6(12): 895-900.
- Basmacioglu, H. and M. Ergul. 2005. Research on the factor affecting cholesterol content and some other characteristics of eggs in laying hens. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** 29:157-164.
- Brummer, A., C.J.V. Rensburg, and C.A. Moran. 2010. *Saccharomyces cerevisiae* cell wall product: The effects on gut morphology and performance of broiler chickens. **J. Anim. Sci.** 40(1):14-21.
- Daud, M., W.G. Piliang, dan I.P. Kompiang. 2007. Persentase dan kualitas ayam pedaging yang diberi probiotik dan prebiotik dalam ransum. **JITV**. 12(3):167-174.
- Fita, M. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak dan Ekstrak Kunyit Melalui Air Minum terhadap Kadar HDL dan LDL Darah Ayam Broiler. **Tesis**. Universitas Jendral Sudirman. Purwokerto.
- Fuller, R. 1992. **Probiotic the Scientific Basic**. 1<sup>st</sup> ed. Chapman and Hall London, New York.
- Hardiningsih, R. dan N. Nurhidayat. 2006. Pengaruh pemberian pakan hiperkolesterolemia terhadap bobot badan tikus putih wistar yang diberi bakteri asam laktat. **Biodiversitas**. 7(2):127-130.
- Hartini, M. dan P.A. Okid. 2009. Kadar kolesterol darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemik setelah perlakuan VCO. **Bioteknologi**. 6(2):55-62.
- Kompiang, I.P. 2009. Pemanfaatan mikroorganisme sebagai probiotik untuk meningkatkan produksi ternak unggas di Indonesia. **Pengembangan Inovasi Pertanian**. 2(3):177-191.
- Kusumawati, N., L.J. Bettysri, S. Siswa, Ratihdewanti, dan Hariadi. 2003. Seleksi bakteri asam laktat indigenous sebagai galur probiotik dengan kemampuan menurunkan kolesterol. **Mikrobiol. Indonesia**. 8(2):39-43.
- Lestari, S.H.A., Ismoyowati, dan M. Indradji. 2013. Kajian leukosit dan diferensial leukosit pada berbagai jenis itik lokal betina yang pakannya disuplementasi probiotik. **JIP**. 1(2):699-704.
- Life Source Basics . 2002. WGP. Beta glucan. **http: www. Life Source basics.Com/beta\_glucan .htm**.
- Liong, M.T. and N.P. Shah. 2005. Bile salt deconjugation ability, bile salt hydrolase activity and cholesterol co-precipitation ability of *Lactobacillus strains*. **Int. Dairy J.** 15:391-398.
- Ljungh, A., Wadstrom, and Torkel. 2005. Lactic acid bacteria as probiotic. **Curr. Issue Intestinal Microbiol.** 7:73-90.
- Lovita, A. 2005. Efek Probiotik sebagai Starter dan Implikasi Efeknya terhadap Kualitas Yoghurt, Ekosistem Saluran, Pencernaan, dan Biokimia Darah Mencit. **Disertasi**. Fakultas Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mahdavi, A.H., H.R. Rahmani, and J. Pourreza. 2005. Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. **Int. J. Poult. Sci.** 4(7):488-492.
- Murray, R.K., D.A. Bender, K.M. Bothan, P.J. Kennelly, P.A. Weil, and V.W. Rodwell. 2012. **Harper's Illustrated Biochemistry**. The Mc Graw-Hill Companies. Inc. USA.
- Patterson, J.A. dan K.M. Burkholder. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **J. Poult. Sci.** 82(2):627-631.
- Perdigon, G., M.E. Nader de Marcias, S. Alvarez, M. Medici, G. Oliver, A.P. pesce de Ruiz Holgado. 1986. Effect of a mixture of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* administered orally on the immune system in mice. **J. Food. Prot.** 49:986-989.
- Santoso, U. dan W. Piliang. 2004. Penggunaan ekstrak daun katuk sebagai feed additive untuk memproduksi meat designer. **Laporan Penelitian**. Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Santoso, U., K. Tanaka, and S. Ohtani. 1995. Effect of dried bacillus subtilis culture on growth, body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicken. **Br. J. Nutr.** 74:523-529.
- Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjono. 1998. **Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis**. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Solichedi, K., U. Atmomarsono, dan V.D. Yunianto. 2003. Pemanfaatan kunyit (*Curcuma domestica* Val) dalam ransum broiler sebagai upaya menurunkan lemak abdominal dan kadar kolesterol darah. **J. Indon. Trop. Anim. Agric.** 157-167.
- Suryo, H., T. Yudiarti, dan Isroli. 2012. Pengaruh pemberian probiotik sebagai aditif pakan terhadap kadar kolesterol, HDL, dan LDL dalam darah ayam kampung. **Anim. Agricult. J.** 1(2):228-237.
- Wijaya, V. Graha, Ismoyowati, dan D.M. Saleh. 2013. Kajian kadar kolesterol dan trigliserida darah berbagai jenis itik lokal yang pakannya disuplementasi dengan probiotik. **JIP**. 1(2):661-668.