

Karakteristik Usus Halus Ayam Pedaging yang Diberikan Asam Jeruk Nipis dalam Pakan

(SMALL INTESTINE PROFILES OF BROILERS
FED WITH LIME TOTAL ACIDS)

Wahidin Mardiono Swantho Menggi Emma^{1*},
Osfar Sjojfan², Eko Widodo², Achmanu²

¹Program Studi Teknologi Pakan Ternak,
Politeknik Pertanian Negeri Kupang

Jln. Adisucipto, Penfui, Kupang Nusa Tenggara Timur,

* Korespondensi: Telp. 085253284020, Email : hadin_mbemma@yahoo.com

²Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya,
Jln. Veteran, Malang, Jawa Timur

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh total asam jeruk nipis terhadap karakteristik usus halus ayam pedaging (pH, viskositas digesta, jumlah dan tinggi villi). Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 120 ayam pedaging jantan strain Lohmann dengan rata-rata berat badan $45,29 \pm 1,76$ g. Penelitian ini menggunakan enam perlakuan dengan masing-masing perlakuan P0 = pakan basal tanpa asam sitrat komersil dan tanpa total asam jeruk nipis, P1 = pakan basal + 0,4 % asam sitrat komersil (b/b), P2 = pakan basal + 0,2 % total asam jeruk nipis (v/b), P3 = pakan basal + 0,4 % total asam jeruk nipis (v/b), P4 = pakan basal + 0,6 % total asam jeruk nipis (v/b) dan P5 = pakan basal + 0,8 % total asam jeruk nipis (v/b), menggunakan Rancangan Acak Lengkap dan diulang empat kali, apabila terdapat pengaruh yang signifikan, akan dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan's. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan total asam jeruk nipis pada level 0,8% berpengaruh secara signifikan ($P < 0.01$) terhadap penurunan pH ($5,54 \pm 0,19$) dan viskositas digesta ($0,10 \pm 0,004$ dPas), namun tidak berpengaruh signifikan terhadap jumlah dan tinggi villi. Penambahan 0,8% ekstrak total asam jeruk nipis memberikan pengaruh terbaik terhadap karakteristik usus halus dibandingkan dengan penambahan yang lainnya.

Kata Kunci : Total asam jeruk nipis, karakteristik usus halus, ayam pedaging.

ABSTRACT

The purpose of this study was to find out the effect of lime total acids on the characteristics of intestine broiler base on its pH, digestive viscosity, and the number and height of small intestine villi. A total of 120 male Lohmann broiler chicks with the average body weight of 45.29 ± 1.76 g, were used in this study which were then allotted into six groups. The six treatment groups consist of : animals feed with no additional acid (P0) as negative control, animals feed with addition of 0.4% (w/w) commercial citric acid (P1) as positive control, and animals feed with additional of 0.2% (P2), 0.4% (P3), 0.6% (P4), and 0.8% (P5) total acids extracted from lime, respectively. This study was carried out using Completely Randomized Design with four replications. The results showed that lime total acids had a very significant effect ($P < 0.01$) on the pH and digestive viscosity. However, no significant effect ($P > 0.05$) was found on the number and height of the villi. The addition of 0.8% total acid on the animals fed give the best result on the intestinal characteristics compared to other treatments.

Keywords: lime total acids, intestinal characteristics, acidifier and broiler

PENDAHULUAN

Pemeliharaan ayam pedaging bertujuan untuk menghasilkan daging dengan masa pemeliharaan yang relatif singkat. Pemeliharaan tersebut berkisar antara 5–8 minggu,

dengan pertumbuhan yang cepat, dan dapat mencapai bobot hidup berkisar 1,5–2,2 kg. Potensi genetik ayam pedaging tersebut seringkali tidak dapat dicapai, karena pada lingkungan pemeliharaan yang normal, saluran usus halus anak ayam telah terkolonisasi

dengan mikroorganisme, yaitu terdapat sekitar 100-400 jenis mikrob yang dikelompokkan pada mikrob yang menguntungkan (nonpatogen) dan yang merugikan (patogen) (Hakim, 2005). Permasalahannya, jika terjadi kolonisasi dengan mikrob-mikrob patogen, diduga dapat menurunkan efisiensi proses pencernaan.

Selama ini, cara yang dilakukan untuk meningkatkan efisiensi proses pencernaan adalah dengan pemberian antibiotik atau dikenal juga dengan *Antibiotic Growth Promoters* (AGPs). Penggunaan antibiotik dalam waktu lama diketahui menimbulkan permasalahan berupa akumulasi residu dalam produk ternak. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah mencari pengganti antibiotik, antara lain dengan penambahan *feed additive* seperti probiotik, prebiotik, dan/atau *acidifier*.

Penambahan *acidifier* dalam pakan ayam pedaging akan menurunkan pH saluran pencernaan, menekan bakteri patogen, dan meningkatkan bakteri nonpatogen sehingga diharapkan dapat meningkatkan efisiensi pakan dan laju pertumbuhan bobot badan (Bolling *et al.*, 2001). Penggunaan *acidifier* selama ini cenderung memanfaatkan *acidifier* sintesis sehingga masih menimbulkan permasalahan, salah satunya ialah proses produksi yang membutuhkan peralatan dan keahlian khusus. Sementara itu, pemanfaatan *acidifier* alami dari bahan lokal yang murah dan banyak tersedia serta metodenya dapat dilakukan oleh semua peternak sampai saat ini belum banyak tersedia. Salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan adalah

pemanfaatan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai sumber *acidifier*. Jeruk nipis dipilih karena mengandung asam sitrat 10 kali lebih banyak dibanding kandungan sitrat jeruk keprok, atau enam kali jeruk manis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh total asam yang diekstrak dari jeruk nipis sebagai sumber *acidifier* alami dalam pakan terhadap karakteristik usus halus ayam pedaging.

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini digunakan 120 ekor anak ayam pedaging umur satu hari (DOC = *day old chick*) dari *strain* Lohmann, berjenis kelamin jantan, rata-rata bobot badan 45,29 g/ekor dengan koefisien keragaman (KK) 3,88%. Ayam dipelihara selama 35 hari, dibagi menjadi tiga periode, yaitu *starter*, *grower*, dan *finisher*. Penggantian pakan *starter* dengan pakan *grower* dilakukan pada hari ke-11 dan penggantian pakan *grower* ke *finisher* dilakukan pada hari ke-29 dan diberikan hingga umur 35 hari. Air minum diberikan secara *ad libitum* dan diganti setiap hari. Pakan yang digunakan disusun sendiri berdasarkan kebutuhan zat makanan untuk ayam pedaging dari *strain* Lohmann jantan periode *starter*, *grower*, dan *finisher*. Pakan basal terdiri atas pakan *starter* yang diberikan pada DOC hingga 10 hari, pakan *grower* diberikan pada ayam berumur 11 hari sampai 28 hari dan pakan *finisher* diberikan pada ayam umur 29 hari hingga 35 hari. Kandungan zat makanan pakan basal penelitian

Tabel 1. Kandungan zat makanan bahan pakan ayam pedaging penelitian*.

Bahan Pakan	EM** (kkal/kg)	PK (%)	LK (%)	SK (%)	Ca** (%)	P** (%)	Lis** (%)	Met** (%)
Jagung kuning	3370	8,95	4,94	3,18	0,02	0,1	0,2	0,18
Bekatul	2860	8,94	9,24	24,59	0,04	0,16	0,71	0,27
Bungkil kedelai	2240	47,93	2,49	4,48	0,29	0,65	2,9	0,65
Bungkil kelapa	2200	22	4,09	23,12	0,2	0,57	0,64	0,29
MBM	2190	53,01	6,98	3,44	10	5,1	2,61	0,69
T.ikan (lokal)	2565	32,27	6,87	2,76	4	3,1	4,49	1,51
Minyak kelapa	9000	0	100	0	0	0	0	0
L-lysin HCl	0	0	0	0	0	0	80	0
Premix	0	0	0	0	50	0	0	0
DL metionin	0	0	0	0	0	0	0	90

Keterangan : * Hasil analisis Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak, Fak. Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

** Hasil perhitungan EM = energi metabolis; PK = protein kasar; LK = lemak kasar; SK = serat kasar; Ca = kalsium; P = posfor; Lis = lisin; Met = methionin.

disajikan pada Tabel 1. dan susunan dan kandungan zat makanan pakan basal periode *starter, grower, dan finisher* disajikan pada Tabel 2. Sumber *acidifier* alami yang digunakan adalah ekstrak total asam jeruk nipis dengan metode Emma *et al.*, (2009).

Rancangan percobaan dan peubah yang diamati. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas enam perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak empat kali dan setiap ulangan menggunakan lima ekor ayam pedaging sehingga jumlah ayam pedaging yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 120 ekor. Adapun perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut :

- P0 : Pakan Basal tanpa asam sitrat komersil dan total asam jeruk nipis
- P1 : Pakan Basal dengan 0,4% asam sitrat komersial (b/v)
- P2 : Pakan basal dengan 0,2% total asam jeruk nipis (v/v)
- P3 : Pakan basal dengan 0,4% total asam jeruk nipis (v/v)

P4 : Pakan basal dengan 0,6% total asam jeruk nipis (v/v)

P5 : Pakan basal dengan 0,8% total asam jeruk nipis (v/v)

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah: (1) pH usus halus, (2) viskositas usus halus, (3) jumlah villi, (4) tinggi villi.

Pengukuran pH usus halus. Digesta ileum dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam wadah penampung, kemudian dilakukan pengukuran pH dengan menggunakan pH meter.

Pengukuran Viskositas Usus Halus. Digesta ileum dikeluarkan, kemudian diencerkan 1 gram digesta dengan aquadest hingga volume 10 ml. Larutan tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5-10 menit. Cairan supernatan hasil sentrifugasi diambil untuk pengukuran viskositas menggunakan viskositometer (Piel *et al.*, 2005)

Penghitungan Jumlah Villi. Sampel usus halus bagian ileum sepanjang 4-5 cm, dipotong, dikeluarkan isinya, ileum dibersihkan dengan larutan NaCl fisiologis 0,01%, kemudian

Tabel 2. Komposisi dan kandungan zat makanan pakan basal/ayam pedaging

Bahan Pakan	Formula (%)		
	<i>Starter</i>	<i>Grower</i>	<i>Finisher</i>
Jagung kuning	46,11	53	55
Bekatul	5	4	7
Bungkil kedelai	27	26,21	20
Bungkil kelapa	5	3,2	4
MBM	4	3,3	2,95
Tepung ikan (lokal)	8	4,7	5,5
Minyak kelapa	3,5	4,5	4,5
L-lysin hcl	0,07	0,02	0,05
Premix	1,22	1	0,95
DL Metionin	0,1	0,07	0,05
	100	100	100
Komposisi berdasarkan analisis proksimat			
Energi metabolis (kkal/g)*	3019,5	3155,83	3200,38
Protein (%)	23,3	21,63	19,35
Serat kasar (%)	7,95	8,82	9,11
Lemak kasar (%)	5,42	4,83	5,54
Ca (%)*	1,43	1,11	1,07
P (%)*	0,71	0,56	0,54
Lis (%)*	1,46	1,23	1,13
Met (%)*	0,52	0,44	0,41

*Hasil perhitungan

disimpan dalam larutan formalin 10%. Setelah itu, lumen usus halus dipotong setebal 4 µm dengan menggunakan mikrotom dan ditempatkan pada slide untuk dilakukan pewarnaan dengan metode *Haemoxyltin-eosin*. Preparat tersebut kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 x dan dihitung jumlah semua villi (*unit/transversal cut*) (Durgut, 2000).

Tinggi Villi. Tinggi villi (µm) diukur menggunakan mikroskop yang dilengkapi mikrometer dengan perbesaran 40 x (Durgut, 2000). Pengukuran dimulai dari dasar (bagian *lamina propria*) sampai puncak villi (Pelicano et, al., 2006).

Analisis Statistika. Data yang diperoleh ditabulasi dan data diolah dengan sidik ragam/ analisis varian (ANOVA). Apabila terjadi perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan's (Yitnosumarto, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Hasil Ekstraksi Jeruk Nipis

Hasil pengukuran pH, kadar vitamin C (asam *askorbat*) dan total asam ekstrak jeruk

nipis dan asam sitrat komersil disajikan pada Tabel 3. Kandungan total asam pada asam sitrat komersil jauh lebih tinggi (99,95%) dibandingkan hasil ekstrak jeruk nipis (17,06). Dengan demikian penambahan asam pada pakan disesuaikan sehingga kandungan total asam sama (100%). Rendahnya kandungan total asam hasil ekstraksi jeruk nipis mungkin disebabkan modifikasi yang dilakukan peneliti dalam melakukan ekstrak jeruk nipis, seperti tidak menggunakan *evaporator vacuum* tetapi menggunakan *oven semi vacuum*. Rendahnya kadar vitamin C mungkin disebabkan sampel mengalami proses oksidasi pada saat ekstraksi, yaitu saat pemanasan dalam *oven semi vacuum*.

Karakteristik Usus Halus

Karakteristik usus halus yang meliputi pH, viskositas, jumlah villi, dan tinggi villi pada ayam percobaan yang diberi ekstrak jeruk nipis dan asam sitrat komersial disajikan pada Tabel 4.

Kadar Asam/pH Usus Halus

Penambahan total asam jeruk nipis dalam pakan cenderung menurunkan pH digesta usus halus ayam pedaging. Kadar Asam/pH terendah terdapat pada ayam yang diberi 0,8% total asam

Tabel 3. Kadar total asam jeruk nipis hasil ekstraksi dan asam sitrat komersial

Sample	pH	Total Asam (%)	Vitamin C (%)
Total asam jeruk nipis	2,0	17,06	0,06
Asam sitrat komersial	1,8	99,95	0,00

Tabel 4. Kadar Asam/pH, viskositas, jumlah villi dan tinggi villi pada ayam pedaging yang diberi total asam jeruk nipis dalam pakan

Perlakuan	P0	P1	P2	P3	P4	P5
pH	6,33 ± 0,06 ^C	6,19 ± 0,05 ^B	6,24 ± 0,02 ^B	6,24 ± 0,02 ^B	6,23 ± 0,05 ^B	5,54 ± 0,19 ^A
Viskositas (dPas)	0,23 ± 0,008 ^E	0,19 ± 0,008 ^D	0,16 ± 0,008 ^C	0,12 ± 0,004 ^B	0,11 ± 0,002 ^{AB}	0,10 ± 0,004 ^A
Jumlah villi (transversal cut)	172,3 ± 45,6	184,8 ± 13,1	189,3 ± 25,1	183,0 ± 09,7	187,3 ± 28,0	200,3 ± 35,3
Tinggi villi (µm)	973 ± 506,2	1192 ± 347,2	1213 ± 109,1	1266 ± 132,4	1325 ± 210,4	1572 ± 34,0

Superskrip (A,B,C,D dan E) pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

Keterangan:

- P0 : Pakan Basal tanpa asam sitrat komersial dan total jeruk nipis
- P1 : Pakan Basal dengan 0,4% asam sitrat komersial (b/v)
- P2 : Pakan basal dengan 0,2% total asam jeruk nipis (v/v)
- P3 : Pakan basal dengan 0,4% total asam jeruk nipis (v/v)
- P4 : Pakan basal dengan 0,6% total asam jeruk nipis (v/v)
- P5 : Pakan basal dengan 0,8% total asam jeruk nipis (v/v)

jeruk nipis (5,54) dan pH tertinggi ditemukan pada ayam yang tidak diberikan total asam jeruk nipis (6,33). Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan total asam jeruk nipis, efektif menurunkan pH digesta dibandingkan pH digesta ayam yang diberi pakan basal maupun pakan dengan penambahan asam sitrat komersil. Penambahan total asam jeruk nipis pada level 0,8% mampu menurunkan pH digesta usus halus ayam pedaging atau penambahan total asam jeruk nipis dimungkinkan tidak terdegradasi sebelum mencapai usus halus dan berfungsi sebagai *acidifier*. Gauthier (2007) menyatakan bahwa pH digesta normal pada setiap bagian usus halus berbeda-beda, pada duodenum pH 5-6, jejunum pH 6,5-7 dan ileum pH 7-7,5. Terjadinya penurunan pH usus halus khususnya bagian ileum dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap mikroflora usus. Penambahan *acidifier* dalam pakan akan mengakibatkan penurunan pH saluran pencernaan, mengurangi bakteri patogen, dan meningkatkan bakteri nonpatogen (Bolling, *et al.*, 2001)

Viskositas Usus Halus

Penambahan ekstrak asam jeruk nipis pada pakan dapat menurunkan viskositas digesta ileum (Tabel 4). Penambahan total asam jeruk nipis dalam pakan cenderung menurunkan viskositas. Viskositas terendah terdapat pada ayam yang diberi 0,8% total asam jeruk nipis ($0,10 \pm 0,004$ dPas) dan viskositas tertinggi ditemukan pada ayam yang tidak diberikan total asam jeruk nipis ($0,23 \pm 0,008$ dPas) dan asam sitrat komersil ($0,19 \pm 0,008$ dPas). Temuan ini mengindikasikan bahwa penambahan total asam jeruk nipis dapat menurunkan viskositas dibandingkan viskositas ayam yang tidak diberi ekstrak asam jeruk nipis. Penurunan nilai viskositas akibat dari penambahan total asam jeruk nipis sampai level 0,8% mengindikasikan terjadinya penurunan pH dan meningkatnya aktivitas pencernaan enzimatis baik oleh enzim indogen maupun endogen untuk bereaksi dengan substrat sehingga memungkinkan terjadi peningkatan laju difusi zat pakan serta penyerapan oleh villi ileum.

Jumlah dan Tinggi Villi

Penambahan ekstrak asam jeruk nipis pada pakan dapat meningkatkan jumlah villi ayam *broiler*. Jumlah villi terbanyak terdapat pada ayam yang diberi 0,8% total asam jeruk nipis yaitu $200,3 \pm 35,3$ /*transversal cut*, kemudian

secara berturut-turut diikuti ayam yang diberikan asam sitrat komersil 0,2% ($189,3 \pm 25,1$ /*transversal cut*), selanjutnya ayam yang diberi 0,6% total asam jeruk nipis ($187,3 \pm 28$ /*transversal cut*), 0,2% total asam jeruk nipis ($184,8 \pm 13,1$ /*transversal cut*), 0,4% total jeruk nipis ($183,0 \pm 9,7$ /*transversal cut*), dan yang paling sedikit jumlah villi terdapat pada ayam yang diberi pakan basal ($172,3 \pm 45,6$ /*transversal cut*).

Selain dapat meningkatkan jumlah villi, total asam jeruk nipis juga dapat meningkatkan tinggi villi, data hasil jumlah dan tinggi villi ayam pedaging disajikan pada Tabel. 4. Villi tertinggi terdapat pada ayam yang diberikan 0,8% total asam sitrat ($1572 \pm 34,0$ μ m) dan villi terendah terdapat pada ayam yang tidak diberikan total asam jeruk nipis ($973 \pm 506,2$ μ m).

Temuan tinggi villi dan jumlah villi ileum ayam pedaging ini, mengindikasikan bahwa penambahan total asam jeruk nipis dapat meningkatkan tinggi villi dan jumlah villi ayam pedaging, walaupun tidak signifikan. Kenyataan ini mungkin terjadi karena dosis pemberian total asam jeruk nipis masih rendah. Meningkatnya tinggi villi dan jumlah villi disebabkan karena total asam jeruk nipis dapat menurunkan pH ileum sehingga sangat mendukung pertumbuhan bakteri nonpatogen. Emma *et al.*, (2009) melaporkan ekstrak asam jeruk nipis sebanyak 0,8% dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen (*Escherichia coli* dan *Salmonella* sp) dan meningkatkan bakteri asam laktat/BAL. Selanjutnya dijelaskan bertambahnya jumlah BAL mengakibatkan perkembangan dari bakteri patogen (*E. coli* dan *Salmonella* sp) semakin tertekan sehingga tidak dapat berkembang dengan baik dan melakukan aktivitas penempelan pada permukaan usus halus.

Chichlowski *et al.*, (2007) melaporkan bahwa *Lactobacilli* dapat mencegah penempelan bakteri patogen seperti penempelan enterotoksinogenik *E. coli*, enteropatogenik *E. coli* dan *Salmonella typhimurium*. *Lactobacillus animalis* juga dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan, perlekatan (*in vitro*) terhadap berbagai jenis *Salmonella* dan menghasilkan substansi antimikroba. Temuan yang sama juga melaporkan bahwa asam butirat sebagai salah satu *acidifier* dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella*, meningkatkan aktivitas bakteri non-patogen (Immersel *et al.*, 2005) dan membantu perkembangan jaringan epitel usus (Antongiovanni *et al.*, 2007).

SIMPULAN

Pemanfaatan total asam jeruk nipis sebagai *acidifier* dalam pakan dapat memperbaiki karakteristik usus halus. Sampai level 0,8% total asam jeruk nipis memberikan respon yang baik terhadap karakteristik usus halus.

SARAN

Disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan dengan penambahan total asam jeruk nipis lebih dari 0,8% sekaligus evaluasi performans dan ekonomisnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Antongiovanni M, Buccioni A, Petacchi F, Leeson S, Minieri S, Martini A, Cecchi R. 2007. Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens effects on gut histology and carcass composition. *Italian J Anim Sci* 6: 19-25.
- Bolling FSD, Snow JL, Parsons CM, Baker, DH. 2001. The Effect of Citric Acid on the Calcium and Phosphorus Requirements of Chicks Fed Corn-Soybean Meal Diets. *Poultry Sci* 80: 783-788.
- Chichlowski M, Croom J, McBride BW, Havenstein GB, Koci MD. 2007. Metabolic and Physiological Impact of Probiotics or Direct-Fed-Microbials on Poultry: A Brief Review of Current Knowledge. *Poultry Sci* 6 (10):694-104.
- Durgut R. 2000. Characterization of Normal Feline Small Intestine And Associated Lymph Nodes By Morphometry And Immunohistochemical Studies., *Israel J Vet Med* 55:2.
- Emma WMSM, Sjoefjan O, Achmanu, Widodo E. 2009. Efek Ekstrak Jeruk Nipis terhadap Jumlah Koloni Bakteri Asam Laktat, *E Coli* dan *Salmonella* dalam Ileum Ayam Pedaging. *JIIIPB* 19: 28-34.
- Gauthier R. 2007. The Use of Protected Organic Acids (Galliacid™) and a Protease Enzyme (Poultrygrow 250™) in Poultry . Jefe Nutrition Inc. St-Hyacinthe, Qc, Canada.
- Hakim RS. 2005. Prospek Probiotik Pada Pedaging, *CP Bulletin Service No 72 Tahun VI* : 4-6.
- Immersel FV, Boyen F, Gantois I, Timbermont L, Bohez L, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R. 2005. Supplementation of Coated Butyric Acid in the Feed Reduces Colonization and Shedding of *Salmonella* in Poultry, *Poultry Sci* 84: 1851-1856.
- Pelicano ERL, Souza PA, Souza HBA, Figueiredo DF, Boiago MM, Carvalho SR, Bordon VF. 2006. Intestinal Mucosa Development In Broiler Chicken Fed Natural Growth Promoters. *Brazilian J. Poultry Sci.* 7: 221–229.
- Piel CL, Montagne L, Lalles JP. 2005. Increasing Digesta Viscosity Using Carboxymethylcellulose in Weaned Piglets Stimulates Ileal Goblet Cell Number and Maturation. *J Nutr.* 135: 86-91.
- Yitnosumarto, S. 1993., Percobaan Perancangan, Analisis, dan Interprestasinya. Jakarta. Penerbit PT Gramedia Utama.