



1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini, sektor usaha ternak unggas terutama ayam ras pedaging masih dikuasai oleh pihak swasta dengan kepemilikan modal yang besar. Sementara peternak rakyat umumnya hanya sebagai buruh atau mitra dengan kapasitas terbatas baik dalam hal produksi maupun pasar. Adanya gairah dalam pengembangan ayam lokal (ayam kampung) seharusnya menjadi peluang bagi peternak di berbagai tingkat usaha untuk lebih kompetitif. Diketahui bahwa produksi ayam kampung tahun 2020 mencapai 0,29 ton atau 13,32% dari kebutuhan daging unggas, sedangkan produksi telurnya mencapai 4,46% dari produksi telur keseluruhan (Ditjen PKH 2020). Banyak pihak swasta yang sudah melirik untuk pengembangan ayam lokal tersebut. Peluang tersebut perlu dioptimalkan yaitu salah satunya dengan cara mengatasi kelemahan atau kendala dalam pengelolaannya. Ditinjau dari segi produksi, umumnya ayam lokal mempunyai tingkat efisiensi pakan yang lebih rendah dibandingkan ayam ras impor. Salah satu upaya untuk mengatasinya dapat dilakukan melalui modulasi terhadap fungsi usus agar dapat berkembang dengan baik sehingga proses penyerapan nutrisi menjadi optimal. Upaya tersebut banyak dilakukan melalui pemberian antibiotik.

Pemanfaatan antibiotik dalam pakan ternak sudah digunakan sejak tahun 1946 dengan tujuan untuk meningkatkan produktivitas dan status kesehatan ternak. Pada unggas, antibiotik digunakan dengan tujuan untuk meningkatkan pencernaan pakan, pertumbuhan dan produksi telur, memperbaiki konversi pakan, menekan kematian dan menjaga kondisi kesehatan. Penggunaan antibiotik bukan hanya pada ayam ras saja saat ini, melainkan unggas lain yang dipelihara secara intensif termasuk ayam lokal. Namun penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan dan berpotensi menimbulkan resistensi sudah dibatasi di Indonesia melalui Peraturan Menteri Pertanian (Permentan), No. 14/Permentan/PK.350/5/2017. Pembatasan ini juga terjadi di beberapa negara di dunia. Oleh karena itu perlu dicari solusi untuk mensubstitusi penggunaan antibiotik dalam pakan unggas. Asam butirat dari kelompok asam organik dan selenium dari kelompok mikromineral dapat dijadikan alternatif pengganti peran antibiotik selain probiotik, prebiotik, minyak esensial, ekstrak tanaman dan enzim (Gadde *et al.* 2017).

Butirat tergolong sebagai asam organik rantai pendek yang umumnya mempunyai dua fungsi yaitu fungsi pertama sebagai kontrol terhadap bakteri yang bersifat *acidifier* dan bakterisidal, sedangkan fungsi kedua adalah fungsi dalam perkembangan vili usus. Butirat dapat mengontrol pH (*acidifier*) dan membuat suasana asam dalam usus halus sehingga menghasilkan kondisi ideal bagi pertumbuhan mikroba non patogen, namun menghambat perkembangan mikroba patogen serta mendukung aktivitas dan fungsi enzim pencernaan, memacu konsumsi pakan, mengurangi produksi amonia dan hasil metabolit mikroba yang menghambat pertumbuhan dan meningkatkan absorpsi zat nutrisi pakan. Selain itu, butirat berperan penting dalam proliferasi sel vili usus. Selenium (Se) merupakan bagian penting dari berbagai selenoproteins, yang paling dikenal di antaranya adalah glutathione peroxidase (GSH-Px). Secara khusus, GSHPx

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

terlibat dalam perlindungan antioksidan seluler, dan telah diketahui bahwa GSH-Px bekerja secara sinergis dengan vitamin E, karena GSH-Px melanjutkan pekerjaan vitamin E dengan detoksifikasi hidroperoksida.

Pada usaha peternakan modern saat ini menunjukkan bahwa periode perkembangan embrio dan neonatal (pertumbuhan di awal-awal menetas) terutama ayam pedaging mendekati 50% umur produktif (Uni *et al.* 2017). Artinya periode perkembangan embrio dan neonatal merupakan fase penting dalam mencapai kinerja pertumbuhan ayam pedaging yang berkualitas di pasaran. Hal inilah yang menjadi alasan penggunaan antibiotik dominan di awal-awal pertumbuhan. Oleh karena itu aplikasi penggunaan butirat akan tepat pada periode embrio dan neonatal tersebut. Selain itu, perkembangan jaringan yang tinggi di awal pertumbuhan ini memungkinkan terjadinya oksidasi dan stress yang dapat meningkatkan jumlah radikal bebas sehingga akan tepat apabila penggunaan selenium dilakukan pada fase tumbuh ini.

Selain jenis bahan sebagai alternatif pengganti antibiotik, teknologi pemberian dari bahan tersebut juga terus berkembang saat ini. Teknik *in ovo feeding* (IOF) dengan berbagai bahan dalam menggertak respon imun baik secara humoral maupun selular membuka peluang pemanfaatan teknologi ini secara komersial untuk unggas. IOF adalah metode menyuntikkan nutrisi berupa cairan ke dalam amnion embrio yang menyebabkan embrio tersebut secara alami mengkonsumsi nutrisi tersebut secara oral sebelum menetas (Uni *et al.* 2003). Penggunaan teknik ini di penelitian unggas berawal dari kesuksesan pencegahan penyakit Marek melalui teknik vaksinasi ovo pada awal tahun 80-an (Sharma dan Burmester 1982). Kemudian Uni dan Ferket (2003) mengembangkan konsep teknik ini dengan pemberian nutrisi volume tinggi (0,4 -1,2 ml) ke cairan amnion telur ayam dan kalkun sehingga dapat memberi asupan makanan untuk embrio yang mengonsumsi cairan amnion sebelum menetas. Studi tersebut terbukti memberikan respon yang lebih baik terhadap ayam pada awal-awal hidup (*neonatal*). Oleh karena itu IOF dinilai sangat memungkinkan dalam memberikan nutrisi sedini mungkin terhadap perkembangan embrio dan ayam *neonatal* dengan baik. IOF disebut sebagai salah satu dari enam tema penting dunia perunggasan ke depan karena dianggap sebagai teknologi inovatif dalam 20 tahun ini yang memberikan dampak besar dalam industri ayam pedaging (Mavromichalis 2017).

IOF terbukti dapat menurunkan mortalitas dan morbiditas setelah menetas, efisiensi pemanfaatan nutrisi pakan yang lebih baik pada awal-awal hidup (*neonatal*), meningkatkan respon imun terhadap antigen enterik, mengurangi kejadian gangguan perkembangan kerangka, dan meningkatkan perkembangan otot dan daging (Uni dan Ferket 2003). Bahan yang dapat menjadi nutrisi IOF cukup beragam yaitu dapat berupa karbohidrat (Tako *et al.* 2004; Uni *et al.* 2005; Smirnov *et al.* 2006), asam amino (Al-Murrani 1982; Ohta *et al.* 1999, 2001), mineral (Tako *et al.* 2004), vitamin (Nowaczewski *et al.* 2012), asam lemak dan modulator lainnya. Penggunaan bahan-bahan IOF tersebut menarik untuk dikaji lebih mendalam, apalagi penggunaannya difokuskan kepada ayam lokal yang informasinya sangat terbatas. Berdasarkan pemikiran dan pertimbangan tersebut maka perlu dilakukan penelitian penggunaan berbagai jenis butirat dan selenium serta kombinasi keduanya melalui teknologi *in ovo feeding* (IOF) untuk meningkatkan kesehatan usus sehingga produktivitas ayam lokal meningkat. IOF

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

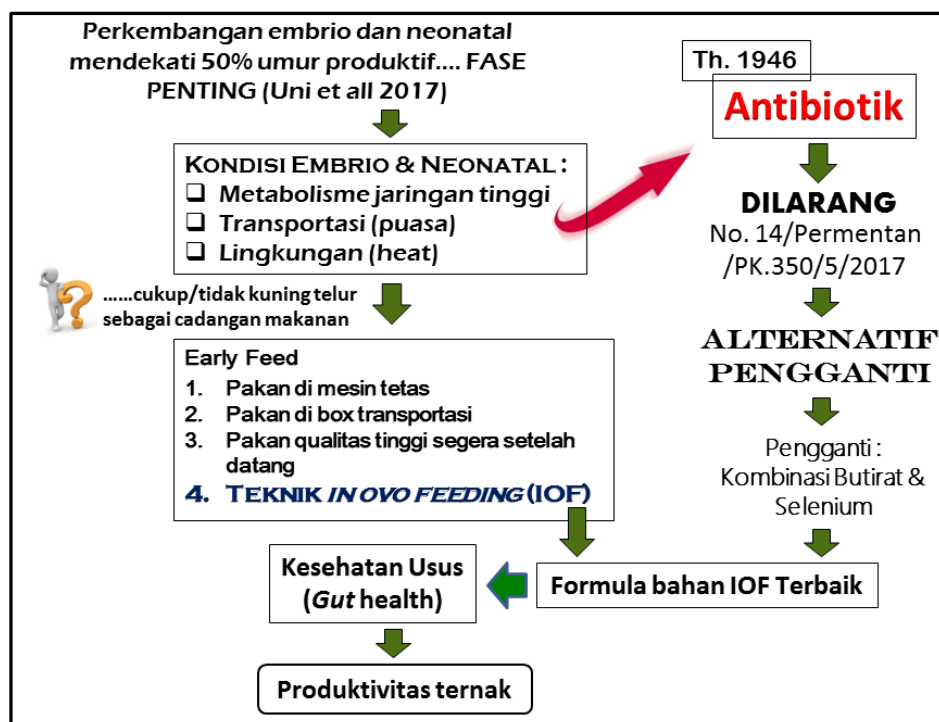
- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

tersebut sekaligus akan mengoptimalkan pemanfaatan kedua bahan tersebut, terutama butirat yang mempunyai sifat bau dan mudah menguap.

1.2 Perumusan Masalah

Upaya perbaikan kesehatan usus ayam lokal melalui pemberian nutrisi butirat dan selenium secara *in ovo feeding* (IOF) perlu dirakit dengan baik. Latar belakang yang telah dijelaskan dapat dituangkan pada kerangka permasalahan yang tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1 Kerangka permasalahan

Berdasarkan kerangka permasalahan tersebut maka dapat dirinci beberapa poin sebagai butir-butir perumusan masalah yaitu:

- Periode perkembangan embrio dan *neonatal* adalah fase penting dalam mencapai kinerja pertumbuhan ayam yang baik, namun pada fase tersebut tingkat metabolisme embrio yang tumbuh cepat saat ini menyebabkan cadangan nutrisi embrio mungkin terbatas atau tidak mencukupi dan bahkan beberapa nutrisi habis pada masa *prenatal*.
- Anak ayam biasanya berpuasa untuk 36-72 jam pertama setelah menetas karena logistik (pengiriman) dalam pemasaran yang berpeluang menyebabkan penurunan kualitas ternak, namun masih ada pemahaman bahwa kebutuhan nutrisinya hanya cukup dipenuhi dari kuning telur sebagai cadangan makanan.
- Perkembangan jaringan yang tinggi di awal pertumbuhan ini memungkinkan terjadinya oksidasi dan stres yang dapat meningkatkan jumlah radikal bebas, apalagi kondisi di Indonesia yang dihadapkan pada *heat index* yang terus meningkat dan dapat memicu stres yang tinggi. Kondisi seperti inilah akan mengganggu perkembangan ternak di awal-awal tumbuh.

- Upaya pemberian nutrisi pakan sedini mungkin (*early feed*) telah banyak dicoba seperti pemberian pakan di mesin tetas, pemberian pakan di box saat transportasi, dan pemberian pakan kualitas tinggi pada DOC segera setelah datang di kandang (*farm*). Namun upaya tersebut banyak terkendala secara teknis dan pengaruhnya pun tidak signifikan.

Adanya indikasi ketergantungan peternak terhadap produk antibiotik sehingga khawatir ketika terjadi pembatasan penggunaan beberapa produk antibiotik. Hal ini memicu juga upaya mencari produk pengganti antibiotik.

Perumusan masalah tersebut adalah yang mendasari perlunya suatu teknik pemberian pakan sedini mungkin (*early feed*) menggunakan bahan nutrisi yang dapat mengganti peran antibiotik dan efektif memodulasi kesehatan usus sehingga produktivitas ayam lokal meningkat. Pemilihan butirat dan selenium sebagai bahan *in ovo feeding* (IOF) dalam menggantikan peran antibiotik mempunyai dasar pertimbangan tersendiri yaitu:

Produk butirat dan selenium di pasaran cukup beragam sehingga perlu dicari (*screening*) jenis dari keduanya yang mempunyai efektifitas terbaik untuk ternak.

- Butirat mempunyai karakteristik bau dan mudah menguap sehingga apabila diberikan secara konvensional melalui pakan menjadi tidak efektif. Oleh karena itu banyak diberikan ke ternak dalam bentuk garam. Pemberian butirat melalui IOF seharusnya memberikan hasil lebih baik dikarenakan dapat langsung dalam bentuk butirat murni. Namun hal ini perlu diteliti mengingat mungkin juga memberikan dampak negatif atau tidak efektif sehingga perlu diberikan *carrier* dalam bentuk garam.
- Peningkatan poliferasi sel akibat pengaruh butirat mengakibatkan perkembangan vili dengan baik pula, namun kemungkinan resiko stres karena intensitas pembelahan sel bisa saja terjadi sehingga peran selenium menjadi penting. Kombinasi pemberian butirat dengan selenium belum pernah dilaporkan baik secara konvensional melalui pakan maupun secara *in ovo feeding* sehingga menjadi suatu kebaruan (*novelty*) dan menarik untuk diteliti.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian adalah :

- Untuk mendapatkan informasi penggunaan secara *in ovo* dari berbagai jenis butirat dan selenium maupun kombinasi keduanya terhadap respon kesehatan usus, imunitas, dan pertumbuhan ayam lokal.
- Untuk mendapatkan produk formulasi bahan *in ovo feeding* (IOF) terbaik menggunakan butirat dan selenium maupun kombinasi keduanya.
- Untuk mengembangkan teknik injeksi *in ovo feeding* (IOF) yang tepat pada telur ayam lokal.

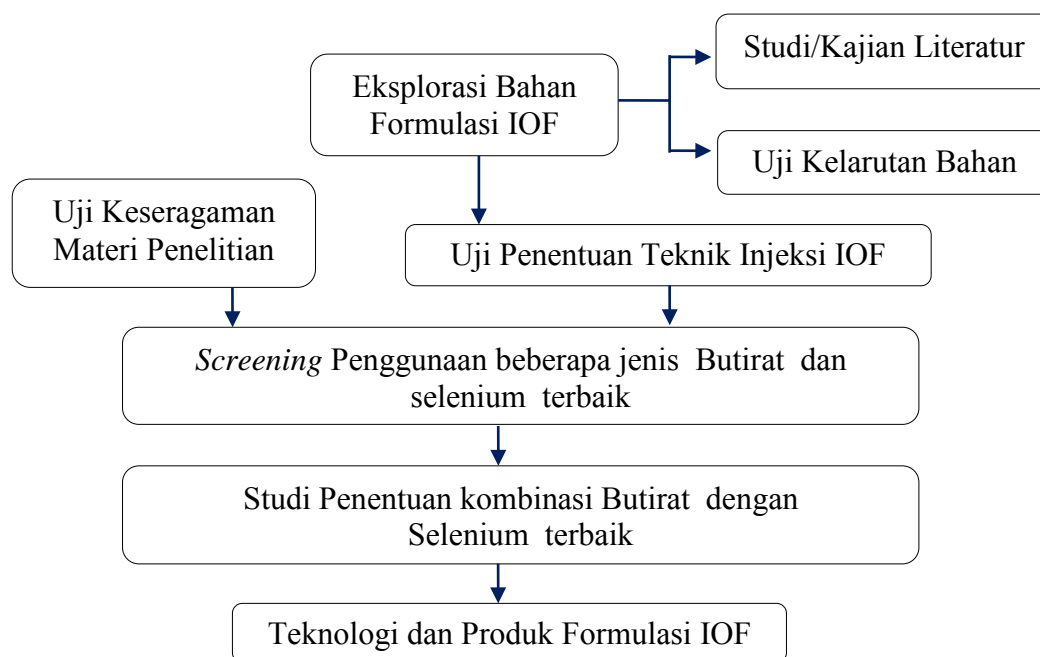
1.4 Manfaat

Tersedianya teknologi dan produk formulasi bahan *in ovo feeding* (IOF) yang dapat menggantikan peran antibiotik pada ayam lokal maupun unggas

lainnya sehingga dampaknya ke depan dapat menghasilkan produk ternak yang aman atau bebas residu.

1.5 Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini meliputi beberapa tahapan penelitian yang tergambar pada alur tahapan kerja penelitian seperti tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2 Alur tahapan kerja penelitian

1.6 Kebaruan (Novelty)

Terdapat tiga poin kebaruan dari penelitian ini, yaitu :

- Menghasilkan produk formulasi bahan *in ovo feeding* (IOF) menggunakan butirat dan selenium maupun kombinasi keduanya.
- Pengujian produk atau formula bahan *in ovo feeding* (IOF) yang mengandung butirat dan selenium maupun kombinasi keduanya pada ayam lokal.
- Pengembangan teknik injeksi *in ovo feeding* (IOF) pada telur ayam lokal.

1.7 Hipotesis

Berdasarkan perumusan masalah yang telah dijelaskan, maka hipotesis penelitian ini adalah suplementasi nutrisi mengandung butirat dan selenium maupun kombinasi keduanya melalui teknologi *in ovo feeding* (IOF) dapat meningkatkan produktivitas ayam lokal. Indikasi peningkatan produktivitas dapat terlihat dari peningkatan daya tetas dan berat tetas, kesehatan vili (perkembangan vili), peningkatan imunitas dan pertumbuhan.



2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Perkembangan Penelitian, Aspek Penting dan Keunggulan *In Ovo Feeding* (IOF)

Penggunaan teknik IOF pada penelitian unggas berawal dari kesuksesan pencegahan penyakit Marek melalui teknik vaksinasi ovo pada awal tahun 80-an (Sharma dan Burmester 1982) sehingga berkembang *in ovo vaccine* (IOV). Kemudian di tahun 2003, Uni dan Ferket (2003) memperkenalkan konsep teknik pemberian nutrisi volume tinggi (0,4 – 1,2 ml) ke cairan amnion telur ayam dan kalkun sehingga dapat memberi asupan makanan untuk embrio yang mengkonsumsi cairan amnion sebelum menetas. Studi tersebut terbukti dapat menurunkan mortalitas dan morbiditas pasca-menetas, efisiensi pemanfaatan nutrisi pakan yang lebih baik pada awal-awal hidup (neonatal), meningkatkan respon imun terhadap antigen enterik, mengurangi kejadian gangguan perkembangan kerangka dan meningkatkan perkembangan otot dan daging (Uni dan Ferket 2003). Suplementasi nutrisi sebelum menetas ini dikenal dengan istilah *in ovo feeding* (IOF).

In ovo feeding adalah suatu metode atau cara untuk melengkapi nutrisi dari luar (nutrisi eksogen) terhadap amnion embrio unggas (Uni dan Ferket 2003). Pemberian makanan melalui teknik IOF dapat menjadi solusi dalam perbaikan embrio ayam pra-netas yang cukup nutrisi. IOF disebut sebagai salah satu dari enam tema penting dunia perunggasan ke depan karena dianggap sebagai teknologi inovatif dalam 20 tahun ini yang memberikan dampak besar dalam industri ayam pedaging (Mavromichalis 2017). Terdapat beberapa aspek penting yang perlu diperhatikan dalam aplikasi *in ovo feeding* (IOF) yaitu konsentrasi larutan serta waktu dan target injeksi. Larutan harus memiliki osmolaritas dan pH yang sesuai dengan lingkungan embrio. Keralapurath *et al.* (2010) menunjukkan bahwa injeksi larutan dengan osmolaritas 380,3 – 696,0 osmol/liter dan pH 7,08 – 7,15 memberi hasil lebih baik dibandingkan yang lain. Tingkat keberhasilan target injeksi pada telur dengan metode *in ovo feeding* yang dilaporkan sangat bervariasi. Lokasi injeksi dilakukan pada *air sac* (kantong udara), *egg yolk* (kuning telur), dan amnion.

Uni dan Ferket (2004) mengemukakan bahwa ayam secara alami akan mengonsumsi cairan amnion saat menjelang menetas. Oleh karena itu, penambahan larutan nutrisi ke cairan amnion embrio di hari-hari menjelang menetas akan memberikan nutrisi penting ke dalam usus embrio. Salahi *et al.* (2011) memberikan bukti bahwa waktu injeksi *in ovo* terbaik adalah 18 hari masa inkubasi. Faktor penting lainnya dalam aplikasi IOF adalah jenis bahan yang akan digunakan. Bahan ini akan menentukan terhadap teknis formulasi serta tujuan yang diharapkan dari suplementasi yang dilakukan melalui IOF. Bahan yang dapat menjadi nutrisi IOF cukup beragam dan memberikan manfaat yang berbeda-beda seperti tersaji pada Tabel 1.

Hasil penelitian dari berbagai sumber yang tersaji pada Tabel 1 menggambarkan bahwa suplementasi beberapa nutrisi melalui teknik IOF pada unggas umumnya menunjukkan pengaruh positif terhadap perkembangan atau pertumbuhan dan produktivitas ternak. Pengaruh tersebut berkaitan dengan

banyak manfaat yaitu meliputi perbaikan parameter penetasan seperti daya tetas dan bobot tetas, perbaikan tampilan atau performan ternak, perbaikan organ pencernaan (ukuran dan fungsi villi usus), perbaikan tulang dan daging, dan peningkatan imunitas.

Tabel 1 Manfaat IOF dengan bahan dan jenis unggas yang berbeda

Jenis bahan	Jenis ternak	Manfaat	Sumber bacaan
Karbohidrat	Ayam	Peningkatan perkembangan usus dan kapasitas pencernaan	Tako <i>et al.</i> 2004; Smirnov <i>et al.</i> 2006
Karbohidrat	Merpati lokal	Meningkatkan performan ternak	Dong <i>et al.</i> 2013
Glukosa	Ayam	Meningkatkan performan anak ayam	Salmanzadeh 2011
Lactose	Kalkun	Peningkatan perkembangan usus dan kapasitas pencernaan	Bohorquez <i>et al.</i> 2007
Dextrin	Kalkun	Peningkatan daya tetas, bobot tetas, pertumbuhan awal.	Bottje <i>et al.</i> 2010
Asam amino	Ayam	Menghasilkan ekspresi gen yang lebih tinggi terkait kekebalan humoral (IL-6 dan TNF- α) dan meningkatkan ekspresi gen imunitas seluler (IL-2 dan IL-12).	Bhanja <i>et al.</i> 2010
Asam amino +karbohidrat	Itik	Menghasilkan bobot badan pada umur 7 hari <i>post-hatching</i> lebih baik	Chen <i>et al.</i> 2009
Vitamin C	Ayam	Peningkatan daya tetas dan aktivitas GPx, meningkatkan berat badan harian dan konsumsi pakan harian, serta menurunkan populasi ileum <i>Coliforms</i> dan <i>E. Coli</i>	Hajati <i>et al.</i> 2014
Vitamin E	Ayam	Meningkatkan daya tetas dan status kekebalan tubuh pasca menetas	Salary <i>et al.</i> 2014
Silver Nano partikel	Ayam	Meningkatkan kinerja pertumbuhan, profil mikroba, dan status kekebalan ayam broiler.	Pineda <i>et al.</i> 2012; Goel <i>et al.</i> 2015
Mineral Zn	Ayam	Meningkatkan kandungan Zn di tibia embrionik dan tingkat ekspresi mRNA MT di hati embrionik	Xiao-ming <i>et al.</i> 2017
Antibiotik	Ayam	Berpengaruh terhadap kandungan propionat sekum yang berkaitan dengan pembentukan <i>competitive exclusion</i> (CE)	McReynolds <i>et al.</i> 2000
Asam Organik (as. butirrat)	Ayam	Perbaikan usus dan fungsi antibakteri	Salmanzadeh <i>et al.</i> 2015; Salahi <i>et al.</i> 2011
Asam Organik +Karbohidrat	kalkun	Peningkatan daya tetas, bobot tetas, pertumbuhan awal.	Foye <i>et al.</i> 2006



2.2 Karakteristik atau Manfaat Butirat dan Selenium Secara Umum

Butirat atau lebih populer dikenal dalam bentuk asam butirat atau asam butanoat termasuk ke dalam kelompok asam karboksilat. Asam butirat ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) adalah asam lemak volatil rantai pendek yang diproduksi secara alami oleh bakteri anaerob dan memiliki peranan penting dalam industri kimia, makanan, farmasi, dan pakan ternak (Brandle *et al.* 2016). Menurut U.S. National Library of Medicine dikemukakan bahwa asam butirat memiliki beberapa karakteristik yaitu berbentuk cairan tidak berwarna dengan bau yang tajam dan tidak sedap, memiliki titik didih $163,7^\circ\text{C}$ dan titik lebur $-5,7^\circ\text{C}$, tingkat kelarutan dalam air $60,0 \text{ mg/mL}$, serta korosif terhadap logam dan jaringan. Foogeding dan Busta (1991) dalam Parten dan Mroz (1999) menyebutkan bahwa asam butirat memiliki berat molekul $88,12 \text{ g/mol}$ dan densitas $0,958 \text{ g/ml}$.

Umumnya asam organik termasuk asam butirat tersebar luas di alam sebagai konstituen normal dari jaringan hewan atau tumbuhan dan ada beberapa diantaranya seperti *short chain fatty acids* (SCFA) diproduksi di perut belakang hewan dan manusia melalui fermentasi mikroba karbohidrat (Van Der Wielen *et al.* 2000; Ricke 2003; Huyghebaert *et al.* 2011). Saat ini, ada kebutuhan besar untuk menghasilkan asam butirat melalui fermentasi mikroba di berbagai industri. Salah satunya adalah menjadi alternatif bahan yang berpotensi sebagai sumber bahan bakar cair, termasuk bioetanol dan biobutanol, serta berbagai bahan kimia organik (Dwidar *et al.* 2012). Pemanfaatan lainnya dari butirat dijelaskan oleh banyak pustaka dalam Zhang *et al.* (2009) diantaranya adalah mengintensifkan rasa dalam makanan, meningkatkan aroma buah dan senyawa aromatik untuk produksi parfum, prekursor untuk memproduksi termoplastik selulosa asetat butirat (CAB), sebagai aditif untuk bahan plastik dan serat tekstil untuk peningkatan ketahanan panas.

Suplementasi asam butirat dan asam organik lainnya dalam pakan ternak dianggap sebagai alternatif yang potensial untuk pengganti antibiotik pada saat ini (Allen *et al.* 2013; Bedford dan Gong 2018; Long *et al.* 2018). Asam organik dapat diberikan dalam pakan atau air minum dan dapat digunakan baik dalam bentuk tunggal sebagai asam organik atau garam (natrium, kalium, atau kalsium) maupun dalam bentuk campuran dari beberapa asam atau garamnya (Huyghebaert *et al.* 2011). Oleh karena itu, perlu optimalisasi pemanfaatan asam butirat tersebut mengingat ada kendala apabila melihat karakteristik fisiknya. Sifatnya yg korosif, bau dan mudah menguap yang mengindikasikan terhadap palatabilitas rendah dan dapat menurunkan konsumsi sehingga apabila diaplikasikan penggunaannya melalui feeding konvensional (pakan atau air minum) akan menjadi tidak efektif, kecuali di *protect (coated)* terlebih dahulu dalam bentuk garam. Hal inilah yang mendasari penerapan aplikasi *in ovo* butirat menjadi penting.

Selenium (Se) memiliki sifat metalik dan non-logam serta dianggap sebagai unsur metaloid, dengan massa atom $78,96$ dan nomor atom 34 . Selenium menunjukkan alotropi yang muncul dalam berbagai bentuk seperti bubuk amorf merah, bahan kristal merah, dan bentuk kristal abu-abu (Aljamal 2011). Terdapat dua bentuk selenium di alam yaitu bentuk organik dan anorganik (Foster dan Sumar 1997). Se anorganik dapat ditemukan di berbagai mineral berupa selenite, selenate, dan selenide serta bentuk asli logam. Sodium selenite dan sodium

selenate adalah bentuk anorganik yang paling umum (Carvalho *et al.* 2003). Selenium dalam bentuk organik meliputi selenomethionine, selenocysteine, asam amino chelates, *Se-yeast*, dan kelp terikat Se. Se organik di dalam pakan bisa berupa kombinasi dengan asam amino metionin dan sistein (Surai 2002). Sumber utama Se untuk unggas ada dua yaitu sumber alami berupa berbagai asam seleno-amino termasuk selenomethionine (Se-Met) dan selenium anorganik berupa selenite atau selenate (Surai dan Fisinin 2014). Sumber selenium dalam bahan pakan dapat berasal dari biji-bijian, kacang-kacangan, molase, ikan, mentega, hati dan banyak lainnya. Kacang Brazil, *barley*, *oat*, *whole wheat*, kerang, udang, dan tiram memiliki kandungan Se yang tinggi (The Carribean Food and Nutrition Institute 2005).

Awalnya selenium dikenal mempunyai toksisitas untuk ternak pada tahun 1930 (Surai 2006). Namun pada tahun 1957-1958 dilaporkan bahwa Se mempunyai peran penting terhadap ternak (Schwarz dan Foltz 1957). Semenjak itu perhatian terhadap selenium terus berkembang diantaranya; perananan selenoprotein dan GSH-Px (Rotruck *et al.* 1973), rekomendasi untuk penggunaan suplemen Se pada unggas dan babi dalam bentuk selenite atau selenate pada tahun (FDA 1974), identifikasi SeCys sebagai asam amino ke-21 yang dikodekan oleh stop codon TGA dan konsep pengembangan Se organik mulai tahun 2000 serta munculnya serangkaian produk yang diperkaya selenium di pasaran (Surai 2006). Secara tradisional Se diberikan pada ransum unggas secara anorganik berupa sodium selenite (Na_2SeO_3), namun penelitian menunjukkan bahwa Se organik (*selenomethionin*) lebih efektif dibanding dengan Se anorganik. Payne *et al.* (2005) menunjukkan bahwa S-Meth (*selenomethionin*) memiliki kemampuan deposisi Se didalam telur yang lebih baik dibanding SS (*sodium selenite*). Oleh karena itu berkembang *Se-yeast* yang didalamnya mengandung 60-85% SeMet, 2-4% SeCys dan <1% selenite atau selenate (EFSA 2008).

Secara umum, selenium (Se) bersama dengan vitamin E bekerja sebagai antioksidan untuk mencegah kerusakan sel oleh radikal bebas yang dihasilkan sebagai produk sampingan alami metabolisme oksigen pada unggas (Surai 2000). Banyak manfaat Se telah dilaporkan diantaranya; dapat meningkatkan pertahanan antioksidan dalam jaringan embrio yang sedang berkembang (Xiao *et al.* 2017). mampu memperbaiki performa dengan meningkatkan bobot badan, kualitas daging dan memperbaiki konversi ransum (Deniz *et al.* 2005), dapat memperbaiki performa broiler yang dipelihara dalam kondisi stres panas (Lagana *et al.* 2007; Khajali *et al.* 2010), menurunkan kadar Malondialdehid (MDA) jaringan pada ayam (Leeson *et al.* 2008), meningkatkan bobot tetas (Urso *et al.* 2015), dapat mengurangi frekuensi penyakit yang berhubungan dengan defisiensi Se dan dapat dengan mudah meningkatkan konsentrasi Se jaringan (Cozzi *et al.* 2011), dapat meningkatkan konsentrasi Se otot ayam (Surai *et al.* 2006).

Jumlah penggunaan selenium pada ternak telah banyak direkomendasikan. Suplementasi minimum selenium yang direkomendasikan oleh NRC untuk broiler adalah 0,15 ppm (NRC 1994). Menurut Leeson dan Summers (2001) supplemetasi selenium yang disarankan dalam pakan layer dan breeder adalah 0,2-0,3 ppm. Namun kebutuhan selenium untuk broiler di daerah tropis membutuhkan level yang lebih tinggi. Otoritas Keamanan Pangan Eropa mengizinkan total konsentrasi pakan Se maksimum 0,5 mg kg^{-1} DM dan penggunaan maksimum *Se-yeast* sebesar 0,2 mg kg^{-1} dalam pakan lengkap (EFSA



2012). Pakan unggas disetujui untuk suplementasi Se-*yeast* pada 0,3 ppm (Federal Register 2002). Defisiensi Se pada ternak dapat menimbulkan berbagai penyakit termasuk diatesis eksudatif, ensefalomalasia nutrisi, dan atrofi pankreas nutrisi (Leeson dan Summers 2001), mempengaruhi kesuburan, kematian embrio, dan penurunan daya tetas (Latshaw *et al.* 1977)

2.3 Mekanisme Butirat dan Selenium Meningkatkan Produktivitas Ternak

Mekanisme kerja asam butirat maupun asam organik lainnya sebagai alternatif fungsi antibiotik diduga sangat berkaitan erat dengan aktivitas antibakteri. Antibiotik merupakan zat anti bakteri yang diproduksi oleh berbagai spesies mikroorganisme (bakteri, jamur, dan actinomycota) yang dapat menekan pertumbuhan dan atau membunuh mikroorganisme lainnya. Gambaran umum mekanisme asam butirat dalam meningkatkan produktivitas ternak akan dipaparkan berikut ini.

Asam organik bersifat bakterisidal terhadap bakteri patogen (gram negatif) dan juga dapat secara langsung melakukan penetrasi ke dinding sel merusak jaringan sel patogen atau dengan memodifikasi pH secara tidak langsung dan mengurangi jumlah bakteri patogen, meningkatkan spesies menguntungkan yang bersifat toleran asam seperti *Lactobacillus* spp., dan mengurangi kompetisi nutrisi oleh mikroba patogen (Boroojeni *et al.* 2014). Diketahui bahwa ayam yang baru menetas mempunyai saluran pencernaan yang belum sempurna dan masih mengembangkan fungsi mikroflora sejalan dengan mulai masuknya asupan pakan. Dalam kondisi ini, anak ayam sangat rentan terhadap mikroorganisme patogen (Adams 2004). Oleh karena itu pemberian asam butirat menjadi penting untuk mengendalikan bakteri patogen usus.

Umumnya karakteristik asam organik termasuk asam butirat memiliki peranan mengontrol pH saluran pencernaan. Asam butirat merupakan *acidifier* yang dapat menurunkan nilai pH dalam pakan (Natsir 2008) atau lebih tepatnya dapat mengontrol kondisi usus halus sehingga menghasilkan kondisi ideal bagi pertumbuhan mikroba non patogen serta menghambat perkembangan mikroba patogen. Kontrol terhadap pH saluran pencernaan sangatlah penting untuk menjaga keseimbangan mikroflora dan kinerja enzim saluran pencernaan.

Asam butirat memainkan peran penting dalam pengembangan epitel usus. Jumlah sel epitel adalah salah satu penentu paling penting dari fungsi epitel usus seperti penyerapan, sekresi, metabolisme dan antibodi sehingga tingkat normalitas proliferasi sel epitel menjadi penting (Inagaki dan Sakatha 2005). Asam butirat diduga dapat digunakan oleh sel-sel epitel usus sebagai sumber energi langsung untuk merangsang proliferasi dan diferensiasi serta meningkatkan fungsi perlindungan terhadap usus (Kinoshita *et al.* 2002). Kondisi ini sangat memungkinkan asam butirat dapat menonjolkan bakal-bakal sel kanker pada usus sehingga mudah dikenali untuk pembentukan pertahanan tubuh (memberi sinyal lebih dini dalam pembentukan sistem imun). Selain itu, terjadinya proliferasi sel epitel usus akan mempengaruhi peningkatan berat jaringan usus yang akan menghasilkan perubahan morfologi mukosa dan proliferasi sel usus gastrointestinal.

Asam butirat memunculkan efek yang kuat pada berbagai fungsi mukosa seperti penghambatan peradangan dan mengurangi stres oksidatif (Hamer *et al.* 2008). Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan Abdelqader *et al.* (2016) bahwa asam organik jenis ini dapat melindungi kerusakan histologis epitel usus dan mempercepat perbaikannya akibat paparan panas. Asam butirat dilaporkan Meimandipour *et al.* (2010) dan Rebolé *et al.* (2010) dapat meningkatkan fermentasi mikroba usus dan produksi asam lemak rantai pendek (SCFA/short chain fatty acids). Jumlah SCFA cukup rendah di usus dan sekum anak ayam muda atau ayam yang baru menetas (VanDerWielen *et al.* 2000) sehingga ayam fase ini dinilai akan sangat efektif untuk diberikan suplementasi asam butirat.

Melihat pemaparan tentang mekanisme asam butirat, maka secara umum ada dua fungsi utama penggunaan asam butirat yaitu berkaitan dengan fungsi kontrol antibakteri dan fungsi perkembangan villi usus (Mansoub *et al.* 2011). Pada prinsipnya, baik antibiotik maupun asam butirat keduanya berorientasi terciptanya kondisi ternak secara fisiologis maupun metabolis dengan baik untuk mendapatkan produktivitas yang baik pula.

Penyerapan selenium (Se) pada unggas terjadi pada usus halus terutama di bagian duodenum. Se organik dan anorganik mempunyai perbedaan dalam proses penyerapannya, walaupun keduanya sama-sama harus diubah menjadi selenite untuk selanjutnya direduksi menjadi hidrogen selenida oleh glutathione reduktase sebelum masuk ke dalam selenoprotein tubuh (Foster dan Sumar 1997). Se organik diserap dengan mekanisme transport aktif menggunakan pompa sodium (Na^+ dan K^+), sedangkan Se anorganik diserap dengan mekanisme difusi pasif. Ketika memasuki sistem porta pembuluh darah, maka Se akan berikatan dengan albumin yang membawanya Se ke hati. Hampir seluruh transport Se dilakukan oleh Selenoprotein (SePP) yang dibentuk di hati menuju ke seluruh jaringan tubuh. Namun untuk ayam yang sedang produksi telur, Se di hati dapat berikatan dengan α dan β globulin, LDL dan VLDL.

Se organik mengandung komponen utamanya yaitu selenomethionine (SM) yang tidak bisa disintesis di dalam tubuh dan harus disediakan dari sumber pakan (Schrauzer 2000). SM secara aktif diangkut melalui membran usus selama penyerapan lalu disimpan di hati dan otot. Diketahui ada dua jalur dalam perombakan atau katabolisme SM yaitu dengan jalur *transsulfuration* melalui selenocystathione untuk menghasilkan selenocysteine yang kemudian terdegradasi oleh dekarboksilase menjadi hidrogen selenida (Beilstein dan Whanger 1992), sedangkan jalur lainnya adalah dengan melibatkan transaminasi-dekarboksilasi.

Apsite *et al.* (1993) melaporkan bahwa bagian duodenum anak ayam mempunyai peranan penting dalam penyerapan Se anorganik. Selenite secara pasif dapat diserap di duodenum dan ileum anterior ayam (Pesti dan Combs 1976). Se anorganik seperti natrium selenit akan dimetabolisme menjadi hidrogen selenida melalui selenodiglutathione dan glutathione selenopersulfide (Turner *et al.* 1998). Hidrogen selenida dikenal sebagai prekursor pengiriman Se dalam bentuk aktif yang dapat digunakan untuk sintesis selenoprotein (Sunde *et al.* 1997). Hidrogen selenida melibatkan metilasi oleh S-adenosylmethionine menjadi ethylselenol, dimethylselenide dan ion triethylselenonium (Foster *et al.* 1986). Ketika asupan Se berlebih maka akan mengikat protein yang kemudian dimetilasi menjadi dimetil selenida atau menjadi ion trimetil selenonium sebagai



produk ekskresi normal di urin. Dimetil selenida juga diekskresikan melalui udara, yang menimbulkan bau bawang putih (Francesconi *et al.* 2004).

Protein pengikat selenium ditemukan di plasma terutama dalam bentuk glutathione peroksidase (GSH-Px). GSH-Px ditemukan di semua jaringan tubuh dimana proses oksidatif terjadi/berlangsung (Kohrle *et al.* 2000). GSH-Px mereduksi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan peroksida lain menjadi air dan alkohol, hal ini mencegah terbentuknya/produksi dari reaktif spesies (ROS). Fungsi penting lain dari GSH-Px yaitu menjaga status redoks pada tingkat sel, memiliki peranan dalam proses diferensiasi, transduksi signal, dan regulasi dari *proinflammatory* produksi cytokine (Ursini 2000). Ada beberapa macam bentuk GSH-Px di dalam tubuh berdasarkan lokasi: 1) fosfolipid GSH-Px, 2) plasma GSH-Px, 3) gastro intestinal GSH-Px, 4) sitosol GSH-Px, dan 5) nucleus sperma spesifik GSH-Px. Pada umumnya, bentuk-bentuk berbeda dari GSH-Px ini beraksi secara bersamaan untuk menyediakan perlindungan antioksidan di tempat-tempat berbeda di dalam tubuh (Kohrle *et al.* 2000). Selenium juga diketahui bersinergi dengan vitamin E bekerja sebagai antioksidan untuk mencegah kerusakan sel oleh radikal bebas yang dihasilkan sebagai produk sampingan alami metabolisme oksigen pada unggas (Surai 2000)

2.4 Overview Penelitian *In Ovo* Butirat dan Selenium pada Unggas

Penggunaan asam organik telah terbukti memiliki manfaat yang signifikan dalam produksi babi dan unggas selama bertahun-tahun. Terjadinya peningkatan kinerja pertumbuhan terlihat ketika asam butirat diberikan dalam pakan ayam pedaging (Panda *et al.* 2009; Adil *et al.* 2011). Begitu juga dengan asam organik lainnya seperti suplementasi asam fumarat pada pakan ayam broiler terbukti meningkatkan berat badan dan efisiensi pakan (Biggs dan Parsons 2008; Adil *et al.* 2010, 2011; Banday *et al.* 2015), asam laktat (Adil *et al.* 2011), sitrat (Haque *et al.* 2010; Salgado *et al.* 2011), formik (Hernandez *et al.* 2006). Penelitian telah menunjukkan bahwa penggunaan asam organik dalam bentuk campuran mempunyai efek lebih baik dibandingkan dalam bentuk tunggal. Berbagai campuran asam organik diuji dan ditunjukkan untuk meningkatkan FCR pada ayam broiler (Samanta *et al.* 2008, 2010). Informasi penggunaan asam butirat melalui teknik *in ovo* masih sangat terbatas. Sejauh ini penelitian *in ovo* asam butirat pada ternak unggas dilakukan baik secara tunggal maupun kombinasi dengan bahan lain seperti yang tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2 secara umum menunjukkan bahwa suplementasi asam butirat melalui teknik *in ovo* baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan bahan lain dapat memberikan pengaruh positif terhadap tampilan ternak unggas. Pemberian asam butirat sebanyak 10–30 mg dalam 0,5 ml akuades yang diinjeksikan pada kuning telur disaat tujuh hari masa embrio terbukti dapat meningkatkan berat tetas, berat badan dan FCR (0–42 hari) serta dapat meningkatkan proporsi villi (duodenum, jejunum dan ileum) baik pada periode penetasan maupun starter (Salmanzadeh *et al.* 2015). Hal yang sama juga diperlihatkan oleh hasil penelitian Salahi *et al.* (2011) yang melakukan *in ovo* asam butirat secara tunggal pada cairan amnion saat umur embrio 18 hari sebanyak 1 ml larutan yang mengandung 0,3% asam butirat solution. Hasil

penelitian tersebut menunjukkan peningkatan morfologi usus halus dan bobot badan serta meningkatkan kualitas usus halus ketika ayam umur 10 hari sehingga memungkinkan terjadinya peningkatan konsumsi, penyerapan nutrisi dan bobot badan. Tinggi jejenum meningkat pada umur tujuh hari dibandingkan kontrol dan peningkatan juga terjadi pada panjang usus halus dan *yolk free body mass* (YFBM) serta berat paha, liver dan hati. Selain itu pengaruh positif juga terjadi pada persentase *chick yield*, panjang ayam dan *lama* inkubasi.

Tabel 2 Perkembangan penggunaan *in ovo* butirir pada unggas

Jenis ternak	Teknik injeksi	Manfaat	Sumber bacaan
Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-7 di egg yolk	Dapat mempengaruhi ukuran usus pada periode penetasan dan starter (<i>post hatch</i>) dan juga bisa memperbaiki penampilan.	Salmanzadeh <i>et al.</i> 2015
Broiler breeder	Injeksi bahan tunggal pada 18 hari inkubasi di cairan amnion	Berpengaruh terhadap peningkatan morfologi usus halus dan bobot badan. Tidak mempengaruhi bobot tetas, tetapi dapat meningkatkan kualitas usus halus ketika ayam umur 10 hari	Salahi <i>et al.</i> 2011
Itik	Injeksi kombinasi bahan pada 22 hari inkubasi di amnion	Kombinasi dengan disakarida dapat meningkatkan fungsi usus dan dkinerja di awal tumbuh. Tidak berpengaruh ketika ternak mendapatkan tingkat pakan yang meningkat (bobot badan 35 hari)	Chen <i>et al.</i> 2010
Kalkun	Injeksi kombinasi bahan pada 23 hari inkubasi di amnion	Terjadi peningkatan bobot badan dan status glikogen periode neonatal	Foye <i>et al.</i> 2006
Ayam ras	Injeksi kombinasi bahan pada 17,5 hari inkubasi di amnion	Meningkatkan perkembangan villi dan bobot badan	Tako <i>et al.</i> 2004

Efek positif sebagai pengaruh suplementasi *in ovo* asam butirir secara tunggal juga terjadi pada suplementasi *in ovo* asam butirir secara kombinasi. Chen *et al.* (2010) mengombinasikan asam butirir dengan komponen disakarida dan glutamin untuk diinjeksikan pada amnion itik di saat 22 hari masa inkubasi. Ketika disakarida diinjeksikan secara tunggal (tanpa kombinasi) tidak nyata berpengaruh terhadap parameter tetas dan pertumbuhan usus halus pada itik, namun setelah dikombinasikan dengan komponen asam butirir ternyata dapat meningkatkan fungsi usus dan kinerja anak itik di awal tumbuh. Menariknya, kombinasi ini mulai tidak nyata lagi pengaruhnya ketika ternak mendapatkan tingkat pakan yang meningkat (bobot badan 35 hari). Penelitian lainnya pada kalkun yang dilakukan Foye *et al.* (2006) yang mengombinasikan asam butirir dengan protein putih telur menghasilkan peningkatan bobot badan, peningkatan persentase *pectoralis muscle* (PC) dan status glikogen periode neonatal.

Kombinasi tersebut dikemas dalam 1,5 ml solution dan diinjeksikan pada 23 hari inkubasi di amnion.

Kombinasi *in ovo* asam butirat dengan bahan lain juga dilakukan pada ayam ras (Tako *et al.* 2004) yang mengombinasikan asam butirat dengan larutan karbohidrat yang terdiri dari maltosa, sukrosa dan dekstrin. Bahan diinjeksikan pada 17,5 hari masa inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan area permukaan dan lebar villi pada 48 jam setelah injeksi. Pada hari ketiga setelah menetas, area permukaan villi meningkat 33 – 45 %. Aktivitas jejunal sucrase-isomaltase (SI) lebih tinggi dibanding kontrol pada embrio 48 jam setelah injeksi. Aktivitas maltase tertinggi mencapai 50% pada tiga hari setelah menetas. Perlakuan kombinasi ini berpengaruh terhadap peningkatan bobot badan 5,0 – 6,2% lebih besar dibandingkan kontrol (tanpa diinjeksi). Melihat secara keseluruhan terhadap penelitian *in ovo* asam butirat mengindikasikan bahwa ada potensi peningkatan produktivitas yang dihasilkan. Selain itu, teknologi tersebut dapat menjadi solusi terhadap kendala penggunaan asam butirat pada pakan ternak konvensional.

Penggunaan Selenium (Se) secara konvensional melalui pakan setelah menetas telah banyak dilaporkan seperti sudah dijelaskan sebelumnya. Se adalah mineral mikro yang penggunaannya sedikit namun dapat memberikan banyak manfaat bagi ternak terutama dalam peran sebagai antioksidan. Oleh karena itu upaya pemberian sedini mungkin melalui teknologi *in ovo feeding* (IOF) telah menjadi fokus penelitian saat ini. Penggunaan selenium secara *in ovo* menunjukkan pengaruh yang cukup beragam pada unggas terutama pada ternak ayam yang banyak diteliti. Secara umum, *in ovo selenium* (Se) dapat meningkatkan respons imun dan antioksidan (Macalintal 2012; Lee *et al.* 2014; El-Fattah 2018; El-Deef *et al.* 2019; Mohammad *et al.* 2019; Ibrahim *et al.* 2020; Shokraneh *et al.* 2020). Selain itu *in ovo* Se dapat menurunkan tingkat kematian embrio (Halverson *et al.* 1965) dan memberikan transisi perkembangan dari embrio ke anak ayam yang lebih baik (Sogunle *et al.* 2018). Menariknya lagi pemberian Se secara *in ovo* ini juga dapat meningkatkan panjang vili usus kecil dan lebar vili duodenum pada ayam (Chandiranathan *et al.* 2107), menghasilkan akumulasi Se jaringan yang lebih besar (Macalintal 2012; Hassan *et al.* 2014), meningkatkan berat badan akhir dan efisiensi pakan serta berpengaruh baik terhadap struktur histologis bursa fabricius, kelenjar timus dan limpa ayam (Bahnas 2018; Hassan 2018). *In ovo* Se dilaporkan juga dapat meningkatkan daya tetas yang lebih tinggi (Macalintal 2012; Abbas *et al.* 2020), namun ada juga yang melaporkan justru tidak berpengaruh terhadap daya tetas (Joshua *et al.* 2016) bahkan dapat menurunkan pertumbuhan ketika dikombinasikan dengan mineral lain (Sogunle *et al.* 2018). Perkembangan teknologi IOF menggunakan selenium sebagai bahan nutriennya secara lengkap tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3 Perkembangan penggunaan *in ovo* selenium pada unggas

Jenis ternak	Teknik injeksi / Jenis Selenium	Manfaat	Pustaka
Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-17 di amnion / Nano-Se	Meningkatkan aktivitas GSH-Px, SOD dan total protein, mengurangi efek negatif inkubasi suhu tinggi (stres panas), meningkatkan aktivitas antioksidan/mengurangi stres oksidatif.	Shokraneh <i>et al.</i> 2020
Puyuh	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-1 di ujung lebar telur / Nano-Se	Meningkatkan daya tetas dan kualitas anak puyuh, serta menurunkan persentase kematian embrio pada awal dan tengah waktu inkubasi	Abbas <i>et al.</i> 2020
Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-14 di <i>air cell</i> / Nano-Se	IOF Nano-Se dosis 10 ppb/telur atau kombinasi IOF 5 ppb/telur dengan suplementasi pakan 10 ppb/kg berpengaruh positif terhadap pertumbuhan, status antioksidan dan imunologi	Ibrahim <i>et al.</i> 2020
Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-14 di <i>air cell</i> / Nano-Se	<i>in-ovo</i> Nano-Se dengan berbagai level dapat meningkatkan rasio konversi pakan, profil lipid, status antioksidan dan imunitas ayam broiler yang menetap.	Mohammad <i>et al.</i> 2019
Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-18 di amnion / Nano-Se	Meningkatkan pertumbuhan dan kekebalan anak ayam serta aktivitas enzim antioksidan.	El-Deef <i>et al.</i> 2020
Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-16 di amnion / SeM dan Nano-Se	IOF Nano-Se 20 µg/telur meningkatkan pertumbuhan dan respon imun tanpa efek negatif pada konstituen darah	El-Fattah 2018
Broiler	Injeksi bahan tunggal dan kombinasi bahan pada inkubasi hari ke-18 di amnion / sodium selenite	Memberikan transisi perkembangan dari embrio ke anak ayam yang lebih baik, menghasilkan nilai tibia tertinggi ketika diberikan tunggal, namun menurunkan pertumbuhan ketika dikombinasikan dengan mineral lain	Sogunle <i>et al.</i> 2018
Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-7 di amnion / Nano-Se	Meningkatkan performa ayam pasca menetap dan tidak berbahaya bagi embrio walaupun sampai 15 ppm	Hassan 2018
Ayam Se	Injeksi bahan tunggal di <i>air sac</i> / Nano-Se	Meningkatkan berat badan akhir dan efisiensi pakan serta berpengaruh baik terhadap struktur histologis bursa Fabricius, kelenjar timus dan limpa ayam	Bahnas 2018



Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-18 di amnion / Nano-Se	Meningkatkan panjang vili usus kecil dan lebar vili duodenum pada ayam	Chandiranathan <i>et al.</i> 2017
Boriler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-18 di amnion / Nano-Se	Tidak membahayakan embrio yang sedang berkembang, tetapi tidak mempengaruhi daya tetas.	Joshua <i>et al.</i> 2016
Boriler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-14 di amnion / sodium selenit	Meningkatkan ekspresi gen imun yang dimediasi sel	Goel <i>et al.</i> 2016
Ayam	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-8 di <i>air sac</i> / selenium	Meningkatkan massa jaringan adiposa dan menyebabkan hipertrofi adiposit selama perkembangan embrio ayam.	Hassan <i>et al.</i> 2014
Boriler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-18 di amnion / sodium selenit dan anorganik selenium (B-Traxim)	Meningkatkan respons imun dan antioksidan pada ayam yang terpapar patogen enteritis nekrotik saat menetas	Lee <i>et al.</i> 2014
Mallard dan ayam	Injeksi bahan tunggal dan kombinasi pada inkubasi hari ke-3 di <i>air cell</i> / Se-Meth dan Mercury (Hg)	Embrio Mallard lebih sensitif daripada embrio ayam terhadap efek teratogenik Se. Kombinasi Se dan Hg menyebabkan kelainan spina bifida dan kraniorachischisis, namun ada indikasi Hg melawan efek negatif yang ditimbulkan Se-Meth	Heinz <i>et al.</i> 2012
Broiler	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-10 di <i>egg yolk</i> / SeM dan sodium selenite	Menghasilkan akumulasi Se jaringan yang lebih besar, daya tetas yang lebih tinggi, mengurangi peroksidasi lipid di paru-paru dan otot jantung embrio, meningkatkan status Se selama perkembangan embrio dan awal pasca menetas.	Macalintal 2012
White Leghorn hens	Injeksi bahan tunggal pada inkubasi hari ke-3 di <i>air cell</i> / sodium selenite	Penggunaan sampai level 0,6 ppm tidak mempengaruhi bobot basah embrio jantan dan betina dari 6-18 hari inkubasi sampai periode terakhir, serta tidak ada kelainan morfologi	Fitzsimmons dan Phalaraksh 1978
Broiler	Injeksi bahan tunggal dan kombinasi pada inkubasi hari ke-14 di <i>air cell</i> / potasium selenite	Kematian embrio lebih kecil pada penggunaan selenium tunggal dibandingkan kombinasinya dengan sulfat	Halverson <i>et al.</i> 1965

Se=Selenium; SM=Selenomethionin; Nano-Se=nanoselenium

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber
 2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPPB University.
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penerjemahan atau untuk tujuan yang sah lainnya.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPPB University.

3 UJI KELARUTAN BAHAN DAN TEKNIK INJEKSI *IN OVO FEEDING* SERTA UJI KESERAGAMAN MATERI PENELITIAN

3.1 Abstrak

Satu tahapan penelitian telah dilakukan bertujuan untuk mengetahui kelarutan bahan dan teknik injeksi *in ovo feeding* (IOF) yang tepat serta memastikan keseragaman materi penelitian. Terdapat empat jenis butir, empat jenis selenium, dan empat jenis pelarut yang digunakan pada uji kelarutan bahan. Terdapat tiga perlakuan dalam uji teknis penanganan lubang kerabang setelah injeksi dan lima level pada pengujian panjang jarum injeksi. Uji keseragaman materi penelitian meliputi keseragaman bobot telur, bobot telur umur 18 hari inkubasi, bobot telur tetas, dan luas permukaan vili ayam umur 1, 2, 3, 5, 7 hari setelah menetas. Telur yang digunakan adalah telur ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB) berasal dari flock kandang dengan umur induk yang sama sebanyak 75 butir pada pengujian panjang jarum injeksi, 180 butir pada pengujian penutupan kerabang telur pasca injeksi, dan 270 butir pada pengujian bobot telur dan bobot tetas. Hasil uji kelarutan bahan disimpulkan bahwa ada dua jenis butir terpilih yaitu sodium butir (*uncoated*) dan asam butir murni, serta ada tiga jenis selenium terpilih yaitu selenium *yeast*, hydroxy-selenomethionine, dan sodium selenite. Jenis larutan yang sesuai untuk bahan-bahan tersebut adalah *phosphate-buffered saline* (PBS). Metode pengembangan teknik injeksi *in ovo feeding* (IOF) secara manual direkomendasikan menggunakan jarum dengan panjang 0,8–0,9 cm pada amnion saat umur telur 18 hari inkubasi. Perlakuan penutupan kerabang bekas injeksi IOF tidak berbeda nyata terhadap persentase daya tetas sehingga perlakuan tanpa penutup dinilai lebih efisien untuk menjadi pilihan. Penggunaan materi telur ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB) yang berasal dari flock kandang dengan umur induk yang sama menghasilkan koefisien keragaman yang rendah (seragam) yaitu 4,74% pada bobot telur, 4,83% pada bobot telur 18 hari inkubasi dan 4,64% pada bobot tetas, sedangkan pada luas permukaan vili berkisar antara 6,22–9,47 %. Secara umum materi penelitian tersebut memenuhi kriteria menjadi materi penelitian yang baik.

Kata kunci: *in ovo*, kelarutan bahan, keseragaman materi, teknik injeksi

3.2 Pendahuluan

Teknologi pakan pada ayam terus berkembang sampai saat ini agar memperoleh produktivitas ternak yang lebih baik. Pemberian pakan sedini mungkin (*early feed*) dipercaya mempunyai pengaruh yang positif terhadap pertumbuhan ternak selanjutnya. Oleh karena itu teknologi *in ovo feeding* (IOF) dapat menjadi pilihan yang tepat untuk memastikan ternak dari mulai fase embrio sudah mendapatkan atau mengonsumsi nutrisi dengan baik sebelum menetas. Teknik IOF ini berkembang pada penelitian unggas berawal dari kesuksesan pencegahan penyakit Marek melalui teknik vaksinasi ovo pada awal tahun 80-an (Sharma dan Burmester 1982). Kemudian bahan vaksin diganti dengan bahan

nutrisi volume tinggi diinjeksikan ke cairan amnion telur ayam dan kalkun sehingga embrio tersebut mengonsumsi cairan amnion sebelum menetas (Uni dan Ferket 2003). Studi tersebut terbukti memberikan respon yang lebih baik terhadap ayam pada awal-awal hidup (*neonatal*).

Saat ini, teknik IOF terus berkembang dan banyak penelitian melaporkan baik dilakukan secara injeksi manual maupun otomatis. Begitupun juga dengan bahan formula IOF yang semakin beragam menggunakan nutrisi yang dianggap sangat penting untuk produktivitas ayam. Selain itu, objek penelitianpun merambah ke berbagai jenis unggas. Hal ini menjadi menarik untuk terus dikaji atau diteliti agar mendapatkan teknologi IOF yang tepat dan lebih baik. Penerapan teknologi IOF pada ayam lokal seperti ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB) tentunya memerlukan prosedur yang berbeda mengingat ukuran atau karakteristik telurnya yang khas sehingga tidak mungkin sepenuhnya mengadopsi prosedur hasil penelitian lain. Artinya walaupun merujuk kepada prosedur yang sudah ada, tetapi perlu ada penelitian mengenai prosedur IOF yang dimodifikasi atau dikembangkan. Begitu juga dengan beragamnya bahan formulasi IOF tentunya memerlukan kajian yang mendalam dari mulai proses formulasi sampai kepada pengaruh terhadap ternaknya. Salah satu contohnya adalah pemilihan larutan yang tepat untuk bahan IOF yang akan digunakan.

Peguajian terhadap keberhasilan penelitian *in ovo feeding* (IOF) pada ayam lokal tidak hanya ditentukan oleh pengembangan prosedur dan teknik formulasi bahan IOF saja, tetapi melainkan perlu memperhatikan prinsip atau kaidah penelitian yang harus dipenuhi dikarenakan sangat berpengaruh terhadap tingkat validitas atau tingkat ketelitian suatu penelitian. Salah satu indikator untuk mengetahui tingkat ketelitian yang dimaksud adalah nilai koefisien keragaman (KK). Keseragaman materi penelitian merupakan hal yang perlu diperhatikan untuk memastikan tidak ada pengaruh lain selain pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati. Cakupan uji keseragaman materi dalam penelitian IOF ini dapat dilakukan terhadap bobot telur yang baru diambil, bobot telur umur 18 hari inkubasi, dan bobot tetas. Selain itu yang tidak kalah pentingnya adalah gambaran perkembangan usus (*vili*) yang terlibat langsung dalam proses penyerapan nutrisi yang diberikan.

Berdasarkan pemaparan tersebut maka perlu dilakukan satu tahapan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui kelarutan bahan dan teknik injeksi *in ovo feeding* (IOF) yang tepat serta memastikan keseragaman materi penelitian.

3.3 Metode

a Uji kelarutan bahan *in ovo feeding*

Uji kelarutan dilakukan pada beberapa jenis butir dan selenium yang banyak tersedia di pasaran. Terdapat empat jenis butir dan empat jenis selenium yang diuji. Keempat butir tersebut adalah: Sodium butir 93% (*uncoated*), sodium butir 56%, kalsium butir, dan asam butir murni, sedangkan keempat jenis seleniumnya adalah: Selenomethionine, selenium *yeast*, *hydroxy-selenomethionine*, dan sodium selenit. Jenis pelarut yang dipilihpun yang umum tersedia dan diduga mempunyai tingkat kelarutan yang baik terhadap jenis butir dan selenium yang akan diuji. Terdapat empat jenis pelarut yang digunakan yaitu

phosphate-buffered saline (PBS), natrium hidroksida (NaOH), dimetil sulfoksida (DMSO), dan aquades.

Banyaknya volume pelarut untuk setiap bahan *in ovo feeding* yang akan diuji disesuaikan dengan kandungan murni dan molaritas selenium maupun butirat dari produk yang diuji serta bobot molekulnya. Selain itu disesuaikan juga dengan kebutuhan butirat dan selenium untuk ayam. Hal lain yang tidak kalah pentingnya disesuaikan juga dengan dosis injeksi setiap telur yang umumnya berkisar antara 0,5–1,5 ml/telur. Pada penelitian ini dipilih 0,5 ml/telur dikarenakan karakteristik telur ayam kampung lebih kecil dibandingkan telur ayam ras. Berikut ini adalah jumlah bahan dan pelarut dari masing-masing jenis butirat dan selenium yang diuji.

Tabel 4 Jenis dan jumlah bahan dan pelarut *in ovo feeding*

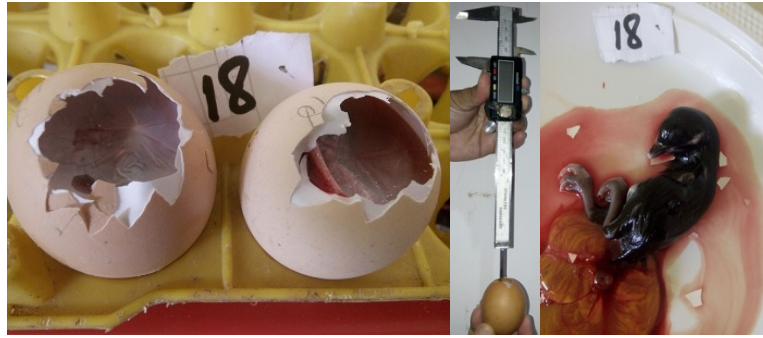
No	Jenis bahan IOF	Kandungan bahan pada produk	Jumlah bahan dalam pelarut (mg/0.5ml)
Jenis butirat			
1	Sodium butirat (<i>uncoated</i>)	93,3 %	20,09
2	Sodium butirat	56,0 %	33,47
3	Kalsium butirat	50,0 %	72,96
4	AB murni	99,6 %	15,60
Jenis Selenium			
1	Selenomethionine	1000 ppm	1,50
2	Selenium <i>yeast</i>	2909 ppm	0,52
3	Hydroxy-selenomethionine	2,0 %	0,07
4	Sodium selenit	4,5 %	0,03

Semua campuran bahan dan pelarut dibuat dalam 10 ml yang didistribusikan sebanyak 2,5 ml ke empat tabung (*tube*) sebagai ulangan. Kemudian dikocok (*divorteks*) selama satu menit sebelum diamati secara visual (*deskriptif*) tingkat kelarutannya yang dinyatakan dalam tiga kategori yaitu: tidak larut (+), kurang larut (++) , dan larut sempurna (+++).

b Studi pengembangan teknik injeksi

Secara umum prosedur injeksi merujuk pada Sogunle *et al* (2018) yang dimodifikasi dikarenakan materi yang digunakan adalah telur ayam lokal yang berbeda ukurannya dengan telur ayam ras. Proses injeksi dilakukan secara manual di lokasi cairan amnion ketika telur dipindah dari mesin *setter* ke *hatcher* umur 18 hari inkubasi. Oleh karena itu, teknik injeksi yang dikaji atau dikembangkan pada penelitian ini terfokus pada penentuan jarum yang digunakan, teknik pelubangan telur, dan teknik penutupan telur pasca injeksi.

Pengukuran panjang jarum diukur dengan cara mengukur panjang atau jarak dari ujung kerabang yang terdapat kantung udara (*air cell*) sampai amnion menggunakan jangka sorong, sedangkan prosedur teknik perlubang telur dilakukan dengan coba-coba menggunakan bor kecil dan jarum (*syrinx*) yang ditumpulkan bagian ujungnya. Jumlah telur yang digunakan pada tahap penelitian ini sebanyak 75 butir. Berikut ini adalah tampilan telur dalam pengukuran jarak antara *air cell* dengan amnion.



Gambar 3 Pengukuran jarak *air cell* dengan amnion telur ayam KUB

Kegiatan teknik penutupan telur pasca injeksi menggunakan tiga perlakuan yaitu ditutup dengan cat kuku (*nail polish*), ditutup solatif, dan tanpa penutup. Masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak enam kali dengan jumlah telur tetas ayam KUB sebanyak 10 butir setiap ulangannya sehingga jumlah telur yang digunakan sebanyak 180 butir.

c Uji keseragaman materi penelitian

Uji keseragaman materi penelitian meliputi bobot telur yang baru diambil dari kandang, bobot telur tetas umur 18 hari inkubasi (*pengeraman*), bobot tetas, dan luas permukaan vili ayam. Telur yang digunakan adalah telur ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) yang berasal dari induk dengan umur dan kandang (*flok*) yang sama.

1) Keseragaman telur tetas

Telur yang digunakan pada penelitian tahap ini berjumlah sebanyak 270 butir telur ditimbang bobotnya kemudian dimasukan ke mesin tetas. Penimbangan bobot telur diulang ketika *candling* kedua pada 18 hari inkubasi (bobot telur 18 hari inkubasi) dan juga setelah menetas (bobot tetas). Umumnya persentase koefisien keragaman (*kk*) merupakan hasil pembagian antara standar deviasi (*sd*) dengan rata-rata dikalikan 100%. Perhitungan tersebut mengacu pada rumus umum yang direkomendasikan Gomez dan Gomez (1995) sebagai berikut:

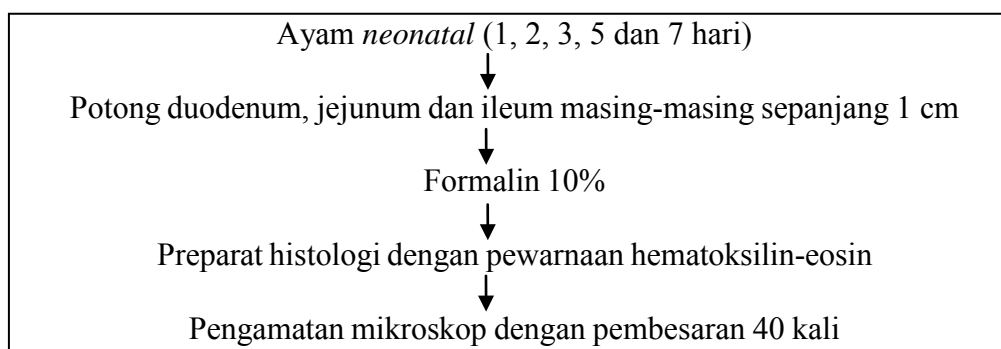
$$KK = \frac{\sqrt{KT \text{ Galat efektif}}}{\text{Rataan umum}} \times 100$$

2) Keseragaman luas permukaan villi

Pengukuran luas permukaan vili dilakukan pada *neonatal* anak ayam umur 1, 2, 3, 5, dan 7 hari meliputi duodenum, jejunum dan ileum yang tahapan pengukurannya dapat dilihat pada Gambar 4. Pengambilan sampel dilakukan dua sentimeter dari ujung proksimal masing-masing segmen usus halus, sepanjang satu sentimeter untuk setiap segmennya. Sampel dimasukkan ke dalam tabung yang berisi larutan formalin 10% untuk kemudian di buat preparat histologi. Hal ini berlaku untuk setiap ulangan dan perlakuan sehingga dapat dibandingkan luas permukaan vili duodenum, jejunum dan ileum dari masing-masing perlakuan .

Sediaan difiksasi dengan larutan *buffer neutral formalin* 10%, kemudian dilakukan *trimming* dan organ dimasukkan ke dalam kaset. Proses

dehidrasi organ dilakukan dengan menggunakan alkohol bertingkat, mulai dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% hingga 100%. Tahap selanjutnya adalah penjernihan (*clearing*) dengan menggunakan xylol, kemudian dilanjutkan dengan penanaman (*embedding*) pada paraffin. Sediaan dalam blok paraffin diiris menggunakan *rotary microtom* dengan ketebalan 4 μm . Hasil irisan yang berbentuk seperti pita direntangkan di permukaan air hangat untuk mencegah pengeriputan jaringan. Kemudian sediaan diangkat dan diletakkan di atas gelas obyektif.

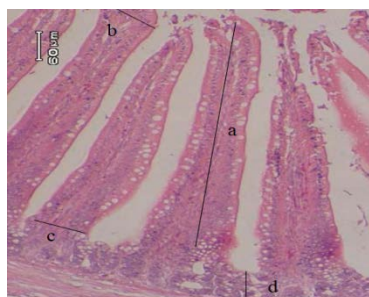


Gambar 4 Pengukuran luas permukaan duodenum, jejunum dan ileum *neonatal*

Tahap selanjutnya adalah pewarnaan umum *hematoksilin eosin* (HE). Proses pewarnaan dimulai dengan deparafinasi menggunakan xylol I dan II, masing-masing selama dua menit. Selanjutnya proses rehidrasi menggunakan alkohol 100%, 95% dan 80% secara berurutan masing-masing selama dua menit lalu sediaan dicuci dengan air mengalir. Sediaan diwarnai dengan pewarna hematoksilin selama delapan menit, dibilas dengan air mengalir, dicuci dengan litium karbonat selama 15-30 detik, lalu dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya adalah pewarnaan eosin selama 2-3 menit. Setelah itu sediaan dicuci air mengalir untuk membersihkan warna eosin yang berlebihan.

Setelah pewarnaan selesai, dilakukan proses dehidrasi. Sediaan dimasukkan ke dalam alkohol 95% dan alkohol absolut I masing-masing sebanyak 10 celupan, alkohol absolut II selama dua menit, xylol I selama satu menit dan xylol II selama dua menit kemudian dikeringkan di udara. Setelah kering, sediaan ditutup dengan *cover glass* menggunakan zat perekat *permount* dan diberi label. Pengamatan struktur usus halus meliputi kedalaman kript, tinggi vili, lebar basal dan lebar apikal dengan menggunakan mikroskop cahaya yang dihubungkan dengan video mikrometer. Pemotongan jaringan usus halus dilakukan setebal 4 μm . Pengukuran struktur usus halus di satu penampang irisan dilakukan pada 10 buah vili yang dipilih secara acak. Perhitungan luas permukaan vili dilakukan dengan menggunakan metode Iji *et al.* (2001):

$$\text{Luas Permukaan Villi} = \frac{(b + c)}{b} \times a$$



Keterangan:
a = tinggi vili
b = lebar apikal vili
c = lebar basal vili
d = kedalaman kripta

Gambar 5 Pengukuran vili usus halus (pembesaran 100 x)

3.4 Hasil dan Pembahasan

a Uji kelarutan bahan *in ovo feeding*

Pembahasan terhadap kelarutan atau solubilitas sangatlah kompleks. Namun kajian kelarutan pada penelitian ini terbatas pada visualisasi deskriptif terhadap homogenitas dari campuran beberapa jenis butirat atau selenium dengan beberapa jenis pelarut ujinya. Hasil pengamatan tersebut tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5 Uji kelarutan beberapa jenis butirat dan selenium

No	Nama Bahan	Tingkat Kelarutan dari jenis pelarut			
		PBS	NaOH	DMSO	Aquades
Jenis Butirat					
1	Sodium butirat (<i>uncoated</i>)	+++	+++	+++	+++
2	Sodium butirat	++ (bahan pengisi ke permukaan)	+ (ph tinggi 12)	+ (terbentuk gumpalan, lemak naik ke permukaan)	+
3	Kalsium butirat	+	+ (ph tinggi 12)	+ (terbentuk gumpalan, lemak naik ke permukaan)	+
4	Asam butirat murni	+++	+++	+++	+++
Jenis Selenium					
1	Selenomethionine	+	+	+	+
2	Selenium <i>yeast</i>	+++ (sedikit suspensi)	+++ (sedikit suspensi)	+++ (sedikit suspensi)	++ (banyak suspensi)
3	Hydroxy-selenomethionine	+++	+++	+++	+++
4	Sodium selenit	+++	+++	+++	+++

tidak larut (+); kurang larut (++); larut sempurna (+++). PBS=Phosphate-buffered saline; NaOH=natrium hidroksida; DMSO=Dimetil sulfoksida; Aquades=Aqua destilasi

Berdasarkan data Tabel di atas terlihat ada dua jenis butirat yang dapat larut sempurna pada semua jenis pelarut yaitu sodium butirat (*uncoated*) dan asam butirat murni, sedangkan untuk selenium ada tiga jenis yang dinilai dapat larut yaitu selenium *selenium yeast*, *Hydroxy-selenomethionine*, dan Sodium selenit, walaupun pada larutan aquades menunjukkan *selenium yeast* membentuk banyak

suspensi dan dinilai kurang larut. Hasil ini sekaligus merekomendasikan tipe atau jenis butirat dan selenium terpilih sebagai bahan atau nutrisi *in ovo feeding* yang digunakan pada tahap penelitian selanjutnya. Semua butirat dan selenium terpilih tersebut dapat larut dengan baik pada PBS, NaOH dan DMSO. Namun mengingat PBS lebih aman apabila masuk ke dalam tubuh ternak maka PBS menjadi larutan terpilih untuk digunakan pada tahap penelitian berikutnya. Hasil ini juga sejalan dengan banyak penelitian yang menjadikan *phosphate-buffered saline* (PBS) sebagai pelarut bahan utama pada *in ovo asam* butirat (Foye *et al.* 2006) dan *in ovo* selenium (Lee *et al.* 2014; Hassan *et al.* 2014; Chandiranathan *et al.* 2107; Macalintal 2012).

b Studi penentuan metode atau teknik injeksi

Telah dikemukakan pada bagian metode bahwa teknik injeksi yang dikaji atau dikembangkan pada penelitian ini terfokus pada penentuan jarum yang digunakan, teknik pelubangan telur, dan teknik penutupan telur pasca injeksi. Hal ini mengingat secara umum prosedur injeksi merujuk pada Sogunle *et al.* (2018), namun perlu dimodifikasi karena materi yang digunakan adalah telur ayam lokal yang berbeda ukurannya dengan telur ayam ras. Proses injeksi dilakukan secara manual di lokasi cairan amnion ketika telur dipindah dari mesin *setter* ke *hatcher* umur 18 hari inkubasi. Lokasi amnion dan waktu injeksi 18 hari dinilai sangat tepat. Kadam *et al.* (2013) menyatakan bahwa lemak kuning telur secara langsung diangkut ke dalam sirkulasi darah oleh endositosis selama perkembangan embrio (periode penetasan) dan isi kuning telur juga diangkut melalui *yolk stalk* ke usus kecil setelah mendekati waktu menetas yaitu ketika kondisi kuning telur mulai masuk ke bagian embrio (internalisasi kuning telur). Pendapat lain menyebutkan bahwa embrio ayam secara alami akan mengonsumsi cairan amnion menjelang menetas (Uni dan Ferket 2004) sehingga penambahan larutan nutrisi ke cairan amnion embrio akan memberikan nutrisi penting ke dalam usus embrio. Salahi *et al.* (2011) memberikan bukti bahwa waktu injeksi ovo terbaik adalah 453 jam masa inkubasi.

Berikut ini adalah tabel hasil pengukuran jarak ujung kerabang yang terdapat kantung udara sampai dengan cairan amnion.

Tabel 6 Jarak ujung kerabang (*air cell*) – *amnion* telur ayam KUB

Kedalaman ujung kerabang (<i>air cell</i>) – <i>amnion</i> (cm)	Persentase (%)
1,1	8,0
1,0	10,7
0,9	48,0
0,8	56,0
0,7	17,3

Berdasarkan data Tabel 6 terlihat bahwa 0,8 cm adalah kedalaman atau jarak yang mempunyai persentase terbesar yaitu 56%, kemudian 0,9 cm sebesar 48%. Nilai ini mengindikasikan bahwa jarum yang tepat untuk digunakan pada proses injeksi *in ovo feeding* (IOF) pada telur ayam KUB direkomendasikan memiliki panjang 0,8–0,9 cm. Hal ini untuk memastikan agar bahan yang diinjeksikan terdistribusi tepat pada bagian amnion, tetapi tidak melukai embrio ayam. Selain itu, pada tahap penelitian ini juga dapat direkomendasikan bahwa proses injeksi

IOF secara manual harus dilakukan pelubangan telur terlebih dahulu menggunakan jarum (*syrinx*) yang ditumpulkan. Teknik ini lebih baik dan efisien dibandingkan dengan menggunakan bor kecil. Gambaran modifikasi jarum yang ditumpulkan tersaji pada Gambar 6.



Gambar 6 Jarum yang ditumpulkan untuk melubangi telur

Telur yang mendapatkan perlakuan *in ovo feeding* (IOF) akan meninggalkan lubang bekas injeksi sehingga dikhawatirkan dapat memengaruhi perkembangan embrio selama tiga hari di mesin *hatcher*. Berikut ini data hasil penelitian yang menggambarkan ada atau tidaknya pengaruh perlakuan pada lubang bekas injeksi pada proses *in ovo feeding* terhadap daya tetas.

Tabel 7 Daya tetas ayam KUB yang mendapatkan perlakuan terhadap lubang bekas injeksi IOF

Perlakuan penutup lubang telur	Persentase Daya Tetas (%)
Cat kuku	90,00 a
Solatif	88,33 a
Tanpa penutup	91,67 a

Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Berdasarkan data pada Tabel 7 terlihat bahwa tingkat daya tetas berkisar antara 90 – 92 %. Tidak ada pengaruh perlakuan yang nyata ($P > 0,05$) terhadap daya tetas ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB). Hasil ini mengindikasikan bahwa perlakuan tanpa penutup pada bekas injeksi *in ovo feeding* (IOF) pada kerabang telur menjadi pilihan sebagai salah satu prosedur yang direkomendasikan pada tahapan penelitian IOF berikutnya. Hal ini dikarenakan perlakuan tanpa penutup dinilai lebih efisien. Perlakuan tanpa penutupan kerabang bekas injeksi IOF juga banyak dilakukan pada penelitian *in ovo feeding* lainnya baik secara injeksi manual maupun menggunakan mesin injeksi otomatis.

c Uji keseragaman materi penelitian

1) Keseragaman telur tetas

Hasil pengamatan keseragaman telur tetas ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB) tersaji pada Tabel 8. Hasilnya menunjukkan bahwa telur tetas ayam KUB memiliki koefisien keragaman bobot yang rendah yaitu 4,74% untuk telur yang baru diambil dari kandang dan 4,83% untuk telur umur 18 hari

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

inkubasi (pengeraman), serta 4,63% untuk bobot tetasnya. Nilai ini mengindikasikan bahwa penggunaan telur tetas dari flock kandang dengan umur induk (status produksi) yang sama berpeluang untuk menghasilkan tingkat keseragaman bobot telur tetas yang tinggi. Semakin rendah koefisien keragaman maka semakin seragam materi penelitian tersebut. Koefisien keragaman (KK) bisa diartikan sebagai gambaran tentang seberapa jauh keragaman yang terdapat di dalam suatu populasi pada suatu percobaan.

Tabel 8 Koefisien keragaman telur tetas ayam KUB

Parameter	Rerata (g)	Koefisien keragaman (%)	Nilai Maksimal (g)	Nilai Minimal (g)	Jumlah n (butir)
Bobot telur	31,12 ± 1,47	4,74	34,65	28,05	270
Bobot telur 18 hari inkubasi	38,63 ± 1,86	4,83	42,14	35,10	206
Bobot tetas	33,34 ± 1,55	4,64	35,94	28,49	186

Nilai KK yang dianggap baik sampai sekarang belum dapat dibakukan karena banyak faktor yang mempengaruhinya. Namun bila mengacu Hanafiah (1991) maka hasil uji keseragaman materi penelitian ini termasuk kategori kecil untuk bobot telur dan bobot tetas dan kategori sedang untuk parameter luas permukaan vili. Menurutnya bahwa KK kecil jika nilainya maksimal 5% pada kondisi homogen atau 10% pada kondisi heterogen, sedangkan KK sedang jika nilai minimalnya 5–10% pada kondisi homogen atau 10–20% pada kondisi heterogen. Secara umum, materi penelitian tersebut dinilai dapat memenuhi kriteria menjadi materi penelitian yang baik dan direkomendasikan untuk digunakan pada penelitian *in ovo feeding* (IOF) tahap berikutnya.

2) Keseragaman luas permukaan vili

Hasil pengamatan terhadap luas permukaan vili ayam KUB selama lima hari pengamatan tersaji pada Tabel 9. Berdasarkan data tabel tersebut terlihat bahwa luas permukaan dari tiga bagian vili mengalami peningkatan setiap harinya. Luas permukaan duodenum meningkat 1,5 kali (umur 2 hari), 2,0 kali (umur 3 hari), 2,2 kali (umur 5 hari), dan 2,5 kali (umur 7 hari) dibandingkan DOC (*day old chick*). Begitu juga dengan luas permukaan jejunum mengalami peningkatan sebesar 1,2; 1,4; 2,1; dan 2,2 kali, sedangkan ileum meningkat 1,2; 1,5; 1,7; dan 2,4 kali lebih luas.

Secara umum, luas permukaan vili dari ayam KUB sampai dengan umur tujuh hari memiliki koefisien keragaman berkisar 5,80–9,47 %. Ada kecenderungan koefisien keragaman luas permukaan vili meningkat sejalan bertambahnya umur ayam. Hal ini besar kemungkinan dipengaruhi tingkat konsumsi pakan yang berbeda. Nilai keseragamannya yang berada dibawah 10% namun masih di atas 5% dinilai wajar mengingat proses pembentukan galur ayam KUB tidak menjadikan bobot telur, bobot tetas maupun luas permukaan vili sebagai indikator seleksi. Pembentukan galur ayam kampung kebanyakan menggunakan orientasi seleksi berdasarkan kepada warna bulu, jengger, warna kaki, atau karakteristik produksi lainnya seperti produksi telur.

Tabel 9 Luas permukaan vili ayam KUB umur 1, 2, 3, 5, dan 7 hari

Umur ayam (hari)	Bagian vili	Rerata (mm)	Koefisien keragaman (%)	Jumlah n
1	Duodenum	0,008 ± 4,8 10 ⁻⁴	6,22	24
	Jejunum	0,010 ± 6,0 10 ⁻⁴	6,31	24
	Ileum	0,017 ± 10,1 10 ⁻⁴	5,80	24
2	Duodenum	0,012 ± 7,7 10 ⁻⁴	6,59	24
	Jejunum	0,012 ± 8,4 10 ⁻⁴	7,28	24
	Ileum	0,021 ± 13,8 10 ⁻⁴	6,50	24
3	Duodenum	0,016 ± 12,5 10 ⁻⁴	7,87	24
	Jejunum	0,013 ± 9,7 10 ⁻⁴	7,26	24
	Ileum	0,026 ± 21,6 10 ⁻⁴	8,23	24
5	Duodenum	0,017 ± 16,5 10 ⁻⁴	9,47	24
	Jejunum	0,021 ± 17,8 10 ⁻⁴	8,54	24
	Ileum	0,029 ± 22,2 10 ⁻⁴	7,60	24
7	Duodenum	0,019 ± 15,6 10 ⁻⁴	8,05	20
	Jejunum	0,021 ± 18,7 10 ⁻⁴	8,71	22
	Ileum	0,043 ± 36,9 10 ⁻⁴	8,50	24

Koefisien keragaman luas permukaan vili ayam sampai umur 7 hari yang dihasilkan dari penelitian ini sulit dikomparatifkan dikarenakan terbatasnya informasi hasil penelitian lainnya. Namun data hasil penelitian ini penting untuk penelitian tahap selanjutnya dengan memastikan bahwa tidak ada faktor lain selain nutrisi yang akan diberikan secara *in ovo feeding* yang memberikan pengaruh atau tidaknya terhadap perkembangan vili.

3.5 Simpulan

Hasil uji kelarutan bahan disimpulkan bahwa ada dua jenis butir terdapat yaitu sodium butir (*uncoated*) dan asam butir murni, serta ada tiga jenis seleneium terdapat yaitu seleneium *yeast*, *hydroxy-selenomethionine*, dan sodium selenit. Jenis larutan yang sesuai untuk bahan-bahan tersebut adalah *phosphate-buffered saline* (PBS). Metode pengembangan teknik injeksi *in ovo feeding* (IOF) secara manual direkomendasikan menggunakan jarum dengan panjang 0,8–0,9 cm pada amnion saat umur telur 18 hari inkubasi. Perlakuan penutupan kerabang bekas injeksi IOF tidak berbeda nyata terhadap persentase daya tetas sehingga perlakuan tanpa penutup dinilai lebih efisien untuk menjadi pilihan. Penggunaan materi telur ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB) yang berasal dari flock kandang dengan umur induk yang sama menghasilkan koefisien keragaman yang rendah (seragam) pada bobot telur (4,74%), bobot telur 18 hari inkubasi (4,83%) dan bobot tetas (4,64%). Namun sedikit lebih tinggi dengan koefisien keragaman yang terjadi pada luas permukaan vili umur 1, 2, 3, 5, dan 7 hari yang berkisar antara 6,22 – 9,47 %. Secara umum materi penelitian tersebut dinilai dapat memenuhi kriteria menjadi materi penelitian yang baik.

4 SCREENING PENGGUNAAN BEBERAPA BUTIRAT DAN SELENIUM SECARA *IN OVO* TERHADAP IMUNITAS, LUAS PERMUKAAN VILI, DAN PERFORMA PADA AYAM LOKAL

4.1 Abstrak

Penelitian bertujuan untuk mengetahui respon ayam lokal terhadap *in ovo feeding* (IOF) dengan berbagai butirat dan selenium. Ada delapan perlakuan berdasarkan bahan IOF, yaitu; P1 (sodium butirat), P2 (asam butirat murni), P3 (selenium yeast), P4 (*hydroxy-selenomethionine*), P5 (sodium selenit), P6 (antibiotik), P7 (*phosphate-buffered saline* atau perlakuan *sham*), dan P8 (kontrol/tidak diinjeksi). Semua bahan dilarutkan dalam PBS 0,5 ml setiap injeksi dengan dosis 1 kg/ton butirat dan 0,15 ppm selenium. Proses injeksi dilakukan pada amnion saat inkubasi 18 hari menggunakan jarum 20G (diameter 0,8 – 0,9 cm). Parameter yang diamati meliputi titer antibodi, diferensiasi total dan leukosit, enzim *glutathion peroksidase* (GSH-Px), luas permukaan vili, pertumbuhan awal, konsumsi dan konversi pakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa butirat dan selenium secara nyata memiliki kecenderungan yang sama memengaruhi luas permukaan vili, titer antibodi, persentase limfosit dan heterofil, penambahan bobot badan harian dan konversi pakan, kecuali selenium anorganik yang masih belum optimal pengaruhnya terhadap titer antibodi dan total/diferensiasi leukosit. Asam butirat murni efektif untuk perkembangan vili di bagian depan usus halus, sedangkan sodium butirat efektif di tengah dan ujung bagian usus halus. Semua jenis selenium terbukti meningkatkan aktivitas enzim glutathione peroksidase (GSH-Px). Disimpulkan bahwa sodium butirat dan selenium yeast (organik) menjadi bahan nutrisi *in ovo feeding* terpilih.

Kata kunci: ayam lokal, butirat, imunitas, *in ovo*, performa, selenium, vili

4.2 Pendahuluan

Periode perkembangan embrio dan neonatal adalah fase penting dalam mencapai kinerja pertumbuhan ayam yang baik. Tingkat metabolisme embrio yang tumbuh cepat saat ini menyebabkan cadangan nutrisi embrio mungkin terbatas atau tidak mencukupi dan bahkan beberapa nutrisi habis pada masa *prenatal* (Havenstein *et al.* 2003). Anak ayam biasanya dipuaskan untuk 36 – 72 jam pertama setelah menetas karena logistik (pengiriman) dalam pemasaran yang berpeluang menurunkan kualitas ternak. Perkembangan jaringan yang tinggi di awal pertumbuhan juga memungkinkan terjadinya oksidasi dan stres yang dapat meningkatkan jumlah radikal bebas, apalagi kondisi di Indonesia dihadapkan pada peningkatan *heat index* yang dapat memicu stres yang tinggi. Kondisi inilah akan mengganggu perkembangan ternak di awal-awal tumbuh sehingga menjadikan peran antibiotik sangat diperlukan.

Peran antibiotik dalam meningkatkan produktivitas usaha ternak di Indonesia sudah tidak diragukan lagi bahkan terindikasi adanya ketergantungan

peternak terhadap produk antibiotik. Regulasi pelarangan terhadap produk ini menuntut berbagai upaya mencari produk pengganti. Asam butirat dari kelompok asam organik dan selenium dari kelompok mikromineral dinilai dapat dijadikan alternatif pengganti peran antibiotik selain probiotik, prebiotik, minyak esensial, ekstrak tanaman dan enzim (Gadde *et al.* 2017). Mekanisme asam butirat dapat mengoptimalkan perkembangan dan fungsi usus (vili), sedangkan selenium berperan penting dalam berbagai selenoprotein di antaranya adalah *glutathione peroxidase* (GSH-Px) yang terlibat dalam perlindungan antioksidan seluler dan berperan mendetoksi hidropersida akibat radikal bebas (Surai 2000). Kedua bahan tersebut pada prinsipnya dapat menciptakan kondisi fisiologis dan metabolis ternak yang lebih baik.

Teknologi pemberian dari bahan alternatif pengganti antibiotik tersebut juga terus berkembang saat ini. Salah satunya adalah teknik *in ovo feeding* (IOF) yaitu metode menyuntikkan cairan nutrisi ke dalam amnion yang menyebabkan embrio ayam mengonsumsi nutrisi tersebut secara oral sebelum menetas (Uni *et al.* 2003). Pemberian pakan melalui teknologi IOF akan memastikan asupan nutrisi secara dini (*early feed*) bagi ternak. Sejauh ini banyak dilaporkan dapat memberikan pengaruh positif terhadap produktivitas ternak. Bahan yang dapat menjadi nutrisi IOF cukup beragam, oleh karena itu penggunaan butirat dan selenium sebagai bahan formulasi nutrisi *in ovo feeding* (IOF) menarik untuk dikaji lebih mendalam, apalagi penggunaannya difokuskan kepada ayam kampung (lokal) yang informasinya sangat terbatas. Jenis butirat dan selenium di pasaran cukup banyak tersedia secara komersial. Komparatif jenis butirat dan selenium yang digunakan dari penelitian atau kajian tersebut masih diperdebatkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan jenis butirat dan selenium terbaik dengan melihat respon ayam kampung yang diberi butirat dan selenium melalui teknologi *in ovo feeding* (IOF) terhadap perkembangan vili dan imunitas serta performa awal tumbuh.

4.3 Metode

a Lokasi dan materi penelitian serta kliren etik

Proses formulasi bahan IOF, injeksi, inkubasi dan pengukuran parameter pertumbuhan dilakukan di laboratorium Balai Penelitian Ternak Ciawi, sedangkan pengukuran parameter imunitas dilakukan di Balai Besar Veteriner Bogor. Penelitian menggunakan telur fertil ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) yang berasal dari flock kandang induk dengan umur yang sama. Terdapat dua jenis butirat dan tiga jenis selenium yang terpilih dari hasil penelitian tahap sebelumnya (uji kelarutan bahan) yang telah dijabarkan pada Bab 3. Jenis butirat tersebut adalah sodium butirat *uncoated* (SB) dan asam butirat murni (ABM), sedangkan jenis seleniumnya adalah selenium *yeast* (SeY), *hydroxy-selenomethionine* (HSM), dan sodium *selenite* (SS) yang dibeli dari distributor pakan aditif. Penelitian ini telah mendapatkan Klirens Etik Perlakuan dan Penggunaan Hewan Coba dari The Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC), Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD) Nomor Balitbangtan/Balitnak/ A/02/2019.

b Prosedur penelitian sebelum menetas

Sebanyak 960 telur fertil ayam KUB (120 telur/perlakuan) digunakan pada penelitian tahap ini. Penelitian menerapkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan delapan perlakuan bahan nutrisi *in ovo feeding* yaitu; P1: Sodium butyrate *uncoated* (SB), P2: asam butirat murni (ABM), P3: selenium yeast (SeY), P4: *hydroxy-selenomethionine* (HSM), P5: sodium selenit (SS), P6: antibiotik, P7: *phosphate-buffered saline* (PBS) sebagai Sham, dan P8: Kontrol (*uninjected*). Penentuan level penggunaan butirat merujuk pada rekomendasi beberapa produsen produk yaitu sebesar 1 kg/ton (SCI 2017), sedangkan level penggunaan selenium merujuk pada NRC (1994) adalah 0,15 ppm. Semua bahan IOF dilarutkan dahulu dalam PBS dengan volume 0,5 ml/injeksi/telur. Prosedur injeksi IOF merujuk pada metode Sogunle *eta al.* (2018) telah dimodifikasi pada tahap penelitian sebelumnya dan tersaji pada Bab 3. Injeksi dilakukan secara manual saat telur yang diinkubasi pada hari ke 18 dipindahkan dari *setter* ke *hatcher*. Proses injeksi dilakukan pada bagian amnion menggunakan jarum 20G dengan panjang 0,8–0,9 cm tanpa perlakuan penutupan kerabang bekas injeksi. Telur yang sudah menerima injeksi IOF kemudian dimasukkan ke mesin *hatcher* dengan suhu 98–99 °F (37–38 °C) dan kelembaban 86–88 % hingga telur menetas.

c Prosedur penelitian setelah menetas

Setelah menetas, anak ayam ditempatkan dalam kandang kawat berukuran 90x50x90 cm², yang berada 40 cm di atas lantai. Jumlah perlakuan pada tahap ini disesuaikan dengan jenis perlakuan injeksi telur yaitu delapan perlakuan dengan Rancangan Acak Lengkap. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga total ada 24 kandang dengan delapan ekor anak ayam di setiap kandangnya. Kandang ditempatkan pada ruangan yang dilengkapi dengan pemanas otomatis (*heater*) untuk mengontrol suhu sehingga lampu hanya berfungsi sebagai penerangan. Temperatur diatur 32–35°C (umur 1–7 hari), 29–31 °C (umur 8–21 hari), dan 27–29 °C (umur 22–28 hari).

Pakan dan minum diberikan secara *ad libitum* selama 21 hari. Tidak ada perbedaan formulasi pakan untuk semua perlakuan. Pakan disusun mengacu kepada rekomendasi NRC (1994). Bahan pakan yang digunakan terdiri dari: 63,14 % jagung lokal, 32,29 % bungkil kedelai, 0,38 % minyak sawit (CPO), 1,69 % limestone, 1,63 % MDC Phosphate, 0,46 % garam, 0,25 % premix, dan 0,16 % DL-methionine. Kandungan nutrisi yang terhitung adalah: bahan kering (91,45%) protein kasar (20,00%), energi yang dapat dimetabolisme sebesar 2850 kkal kg⁻¹, serat kasar (4,66%), lemak kasar (3,03%), abu (7,48%), kalsium (1,00 %), dan fosfor (0,45%), lisin (1,055%) dan metionin (0,477%). Total selenium dalam pakan dapat dihitung sebanyak 0,13 ppm.

d Paramater penelitian

Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi; luas permukaan vili, titer antibodi, total dan diferensiasi leukosit, aktivitas enzim *glutathione peroxidase* (GSH-Px), dan performa ayam awal tumbuh. Data yang diperoleh dari masing-masing parameter penelitian dianalisis dengan membandingkan antara perlakuan butirat (P1 dan P2) dengan ketiga perlakuan pembanding yaitu antibiotik (P6), *sham*/PBS (P7), dan kontrol/*uninjected* (P8). Hal yang sama juga untuk perlakuan selenium (P3, P4, dan P5) dibandingkan juga dengan perlakuan

pembandingan (P6, P7, dan P8). Analisis data menerapkan *Analisis of variance* (ANOVA), sedangkan proses pengolahannya menggunakan *software* SAS versi 9 (2003). Teknis pengukuran setiap parameter dijelaskan sebagai berikut;

1) Luas permukaan vili

Pengukuran luas permukaan vili dilakukan pada *neonatal* anak ayam umur tujuh hari meliputi duodenum, jejunum dan ileum dengan tahapan atau metode pengukurannya sama seperti yang dilakukan pada pengukuran luas permukaan vili pada tahap sebelumnya (Bab 3).

2) Titer antibodi

Pengukuran titer antibodi melalui uji penghambatan aglutinasi (HI Test). Pada masa *starter* terdapat program vaksinasi yaitu vaksinasi *Newcastle Disease* (ND) yang diberikan pada hari keempat. Vaksin yang digunakan berupa vaksin tidak aktif ND produksi INTERVET yang diberikan melalui penyuntikan pada subkutan leher dan ND aktif strain Lasota yang diberikan melalui tetes mata. Pada hari ke-21 juga diberikan vaksin ND II berupa vaksin aktif strain Lasota yang diberikan melalui air minum. Pada hari ke 4, 11, dan 18 diambil 2 ml darah, kecuali pada hari ke-4 hanya sebanyak 1 ml dari satu ekor ayam pada tiap ulangan. Darah diambil melalui pembuluh darah vena di sayap, tetapi untuk hari ke empat diambil melalui pembuluh darah vena di leher. Hal ini dilakukan untuk pengukuran titer antibodi terhadap ND. Darah yang didapat dimiringkan dan dibiarkan selama satu jam, lalu dimasukkan ke dalam pendingin 4 °C selama 10–30 jam, lalu diambil serumnya. Serum adalah bentuk cairan darah tanpa fibrinogen.

Uji HI dalam penelitian ini ditujukan untuk mengukur tingginya titer antibodi yang terkandung di dalam serum atau untuk menggambarkan tingkat kekebalan ayam setelah divaksinasi dengan vaksin ND LaSota. Serum yang dihasilkan dari sampel darah langsung dianalisis titer antibodinya. Nilai titrasi merupakan titer antibodi yang dapat dilihat dari pengenceran tertinggi yang mampu mengendapkan sel darah merah. Hasil reaksi yang menunjukkan penghambatan aglutinasi terakhir pada sumur mikropalte yang merupakan pengenceran tertinggi dari serum yang di uji disebut *end point*. Titer antibodi dihitung melihat *end point* (Siregar 1988).

Rata-rata titer antibodi dari masing-masing perlakuan dihitung dengan metode Geometric Mean Titer (GMT) menurut Villegas (1987) dengan rumus:

$$\text{Log GMT} = \frac{\text{Log GMT}(\text{Log } 2(t_1)(s_1) + \text{Log } 2(t_1)(s_1) + \dots + \text{Log } 2(t_n)(s_n))}{N}$$

- Keterangan :
- N = Jumlah contoh serum dari Kelompok
 - t = Titer antibodi pada pengenceran terakhir
 - s = Jumlah contoh serum bertiter t
 - n = Titer antibodi pada sampel n

3) Total dan diferensiasi leukosit

Pada hari ke 18 satu sampel darah ayam sebanyak 0,3 ml per ulangan. Darah diambil melalui pembuluh darah vena pada leher untuk pengukuran jumlah leukosit dan diferensiasinya. Segera setelah sampel darah diambil, dilakukan perhitungan jumlah leukositnya dengan kamar hitung dan pengencerannya 20 kali dengan larutan *Brilliant Cresy Blue* (BCB). Jumlah leukosit per mm³ darah dengan pengenceran 20 kali = 20 x 10⁴ x jumlah

butir leukosit dalam 4 kotak = 50 x butir leukosit dalam 4 kotak besar (Benjamin 1980). Diferensiasi leukosit dilakukan pada preparat ulas darah yang diwarnai dengan pewarnaan *Giemsa* meliputi pengamatan heterofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit dalam persentase dan jumlah keseluruhannya adalah 100% atau dengan metode Benjamin (1980).

4) Aktivitas enzim *glutathione peroxidase* (GSH-Px)

Pengukuran menggunakan metode spektrofotometri berdasarkan oksidasi NADPH dan dinyatakan dalam U/mL. Sebanyak 200 μ l plasma ditambahkan 200 μ l buffer fosfat 0,1 M pH 7,0 yang mengandung 0,1 mM EDTA, 200 μ l glutathione tereduksi (GSH) 10 mM dan 200 μ l enzim glutathione reduktase. Kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, ditambahkan 200 μ l NADPH 1,5 mM dan diinkubasi lagi selama tiga menit pada suhu yang sama, ditambahkan 200 μ l H₂O₂ 1,5 mM. Absorbansi diukur diantara waktu 1–2 menit dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm. Aktivitas enzim ditentukan dengan persamaan (Kotan *et al.* 2011) :

$$\text{GPx (U/ml)} = \frac{\text{Abs} \times \text{Vt} \times 2 \times 1}{6,22 \times \text{Vs}}$$

Keterangan : Abs : Perubahan absorbansi
 Vt : Volume total
 Vs : Volume sampel
 6,22 : Koefisien ekstrinsik NADPH
 2 : 2 mol GSH setara dengan 1 mol NADPH

5) Performa ayam awal tumbuh

Pengamatan performa ayam dilakukan selama tiga minggu meliputi; bobot badan, pertambahan bobot badan, konsumsi dan efisiensi pakan. Pengukuran konsumsi pakan (g/ekor) didapatkan dari pengurangan jumlah pakan yang diberikan dengan jumlah pakan sisa tiap minggunya. Penimbangan bobot badan dilakukan dengan menimbang ayam per ekor setiap seminggu sekali. Efisiensi pakan diukur dengan menghitung FCR (*Feed conversion ratio*) yaitu membagi konsumsi pakan dengan bobot badan ayam.

e Jadwal dan waktu pengukuran parameter

Tabel 10 Jadwal dan waktu pengukuran parameter

Parameter	Waktu (hari ke-)	Aktivitas Penelitian
<i>Periode sebelum menetas (inkubasi telur)</i>		
	7	Candling pertama (memisahkan telur infertil)
Candling dan Injeksi telur (IOF)	18	Candling kedua (memisahkan telur infertil dan telur dengan embrio mati)
	18	Penyuntikan In ovo nutrien + pemindahan telur dari mesin setter ke hatcher
<i>Periode setelah menetas</i>		
	4	Sampel darah titer antibodi ND ke-1 @3 ekor/t
Titer antibodi ND	4	Vaksinasi ND ke-1 @21 ekor/perlakuan
	11	Sampel darah titer antibodi ND ke-1 @3 ekor/t
	18	Sampel darah titer antibodi ND ke-2 @3 ekor/t

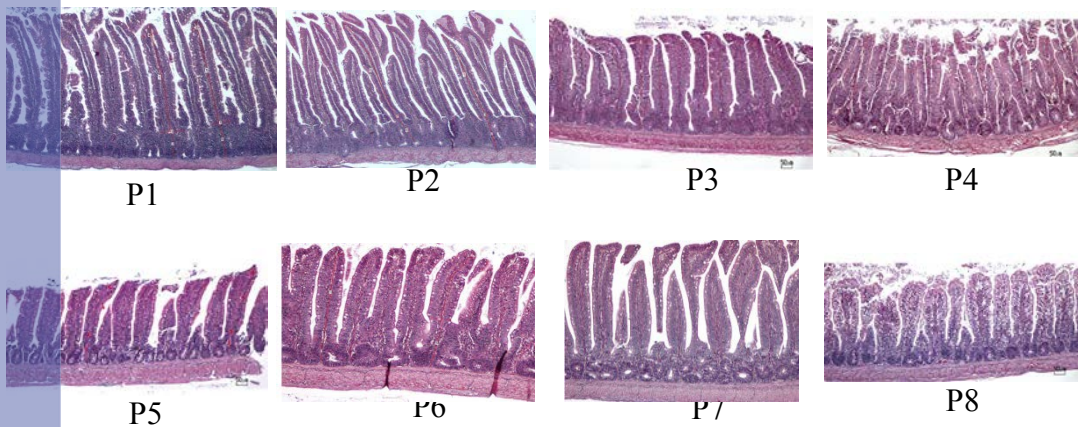
Total dan diferensiasi leukosit	18	Sampel darah untuk Total & diperensiasi leukosit @3 ekor/t
Perkembangan villi	7	Sampel bursa @3 ekor/t
	7	Sampel tymus @3 ekor/t
	7	Sampel villi (luas permukaan villi) @5 ekor/t
Bobot Badan, Konsumsi, Konversi pakan	1	Pengukuran BB, Konsumsi pakan, FCR @21 ekor/t
	7	Pengukuran BB, Konsumsi pakan, FCR @21 ekor/t
	14	Pengukuran BB, Konsumsi pakan, FCR @21 ekor/t
	21	Pengukuran BB, Konsumsi pakan, FCR @18 ekor/t

4.4 Hasil dan Pembahasan

Komparatif antara perlakuan *in ovo* butirat (P1, P2) dan selenium (P3, P4, P5) dengan perlakuan pembanding (P6, P7, P8) terhadap respon luas permukaan vili tersaji pada Tabel 11, sedangkan terhadap imunitas yang meliputi titer antibodi, total dan diferensiasi leukosit, aktivitas enzim *glutathione peroxidase* (GSH-Px) tersaji pada Tabel 12 dan respon terhadap pertumbuhan tersaji pada Tabel 13.

a Luas permukaan vili umur 7 hari

Kemampuan pencernaan dan penyerapan zat-zat makanan dapat dipengaruhi oleh luas permukaan epitel usus dan luas permukaan vili baik di duodenum, jejunum, dan ileum (Ibrahim 2008). Umumnya proses penyerapan nutrisi sebagian besar terjadi di bagian ileum. Gambaran vili yang diambil dari bagian ileum masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Tampilan vili di ileum dari Sodium butirat *uncoated* (P1), Asam butirat murni (P2), Selenium *yeast* (P3), *Hydroxy-selenomethionine* (P4), Sodium *selenite* (P5), Antibiotik (P6), Sham (P7), Kontrol (P8)

Tampilan vili pada Gambar 7 menunjukkan visualisasi vili yang normal. Berdasarkan gambaran visualisasi ini belum dapat menentukan perlakuan terbaik secara visual karena hasilnya akan deskriptif dan sangat subjektif, namun,

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

setidaknya mampu memberikan gambaran komparatif secara cepat. Oleh karena itu perhitungan luas permukaan vili dapat dianggap sebagai pendekatan kuantitatif dalam menentukan respon terhadap perlakuan. Respon perlakuan *in ovo* butirrat dan selenium terhadap luas permukaan vili tersaji pada Tabel 11.

Tabel 11 Komparatif antara *in ovo* butirrat dan selenium dengan kontrol terhadap luas permukaan vili

Perlakuan	Luas Permukaan Villi (mm ²)		
	Duodenum	Jejunum	Ileum
Butirat (AB) vs Kontrol			
P1 (SB)	0,030b	0,028a	0,045a
P2 (ABM)	0,041a	0,022b	0,043a
P6 (Antibiotik)	0,017c	0,016c	0,033b
P7 (Sham)	0,012c	0,015c	0,025bc
P8 (Kontrol)	0,008c	0,013c	0,024c
SEM	< ,01	< ,01	< ,01
p-value	< ,0001	< ,0001	< ,0001
Selenium (Se) vs Kontrol			
P3 (SeY)	0,019a	0,019a	0,042a
P4 (HSM)	0,017ab	0,020a	0,038a
P5 (SS)	0,014ab	0,013b	0,034ab
P6 (Antibiotik)	0,017a	0,016ab	0,033ab
P7 (Sham)	0,012bc	0,015ab	0,025bc
P8 (Kontrol)	0,008c	0,013b	0,024c
SEM	0,71	0,62	1,28
p-value	< ,0001	0,0016	< ,0001

Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirrat; ABM=Asam butirrat murni; SeY= Selenium *yeast*; HSM= *Hydroxy-selenomethionine*; SS=Sodium *selenite*

Data Tabel 11 menunjukkan bahwa perlakuan butirrat (P1 dan P2) memberikan pengaruh positif terhadap luas permukaan vili pada semua bagian usus halus. Asam butirrat bentuk murni (P2) nyata memberikan respon terbaik di duodenum, namun ketika di jejunum justru sodium butirrat (P1) memberikan pengaruh lebih baik. Kedua jenis butirrat tersebut di ileum memberikan pengaruh yang sama. Hal ini mengindikasikan bahwa asam butirrat murni (P2) lebih mudah terabsorpsi sehingga berkontribusi baik terhadap perkembangan luas permukaan vili di bagian usus halus bagian depan, sedangkan asam butirrat dengan *carrier* garam atau sodium butirrat (P1) akan terilis perlahan sehingga efektif untuk perkembangan usus halus di bagian tengah dan akhir. *In ovo* asam butirrat pada telur ayam ras juga pernah dilaporkan berpengaruh baik terhadap perkembangan tinggi, lebar dan luas area vili (Tako *et al.* 2004 ; Salahi *et al.* 2011). Hal ini diduga karena asam butirrat mempunyai mekanisme pengaturan pH yang dapat mengendalikan bakteri patogen usus (Namkung *et al.* 2011), serta bisa digunakan sebagai sumber energi langsung untuk merangsang proliferasi dan diferensiasi oleh sel-sel epitel usus (Kinoshita *et al.* 2002).



Penggunaan jenis butirrat yang tepat sebagai bahan *in ovo feeding* harus menjadi pertimbangan utama sehingga hasilnya akan memberikan perkembangan vili yang baik. Semua perlakuan butirrat (P1, P2) berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan antibiotik (P6), sedangkan perlakuan antibiotik itu sendiri tidak lebih baik responnya dibandingkan kontrol. Oleh karena itu, tidak heran apabila telah banyak penggunaan butirrat sebagai pengganti antibiotik (Bedford dan Gong 2018). Fortifikasi nutrisi butirrat melalui teknik *in ovo* pada ayam lokal masih belum bisa menghasilkan perkembangan vili yang sama atau setidaknya mendekati besarnya seperti pada ayam broiler. Salah satu *et al* (2015) melaporkan bahwa luas permukaan vili ayam broiler yang diberi 0,3 % butirrat menghasilkan luas permukaan vili $0,102 \text{ mm}^2$ di jejunum dan $0,079 \text{ mm}^2$ di ileum. Artinya hampir empat dan dua kali lebih besar dibandingkan luas permukaan jejunum dan ileum pada ayam kampung.

Data pada Tabel 11 menunjukkan bahwa semua jenis selenium memberikan pengaruh yang baik terhadap luas permukaan vili jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Pengaruh perlakuan tersebut nyata berbeda ($P < 0,05$) kecuali perlakuan selenium *selenite* (P5) pada bagian jejunum. Hal ini kemungkinan terjadi karena sodium atau natrium selenit sebagai selenium anorganik mengalami perubahan struktur menjadi ion karena kondisi asam pada proventikulus sehingga kurang efisien dalam merangsang perkembangan vili. Berbeda dengan selenium *yeast* (P3) dan *hydroxy-selenomethionine* (P4) yang diharapkan lebih toleran terhadap kondisi asam. SeY atau selenium *yeast* (organik) diketahui mengandung β 1-3 dan 1-6 glukosa yang dapat larut dalam *phosphate-buffered saline* (Liu *et al.* 2017). Glukosa dapat terikat bersama dengan makrofag dan sel *natural killer* (NK) yang memicu proses aktivasi makrofag (Pelizon *et al.* 2005). Mekanisme ini akan mencegah patogen tumbuh, sehingga vili usus dapat tumbuh dengan baik. Selain itu, SeY mengandung terutama 90% *selenomethionine* (Schrauzer 2006). Selenium organik, baik itu berupa selenium *yeast* (SeY) maupun dalam bentuk *hidroksi-selenomethionine* (HSM) diketahui mudah diserap pada semua segmen usus, sedangkan selenium anorganik seperti sodium selenit hanya diserap secara efisien di ileum (Vendeland *et al.* 1992). Tingkat penyerapan selenium yang berbeda di berbagai bagian usus dapat menyebabkan perkembangan usus yang berbeda pula, namun penjelasan mekanisme tersebut membutuhkan penelitian lebih lanjut.

Respon yang berbeda terhadap perkembangan daerah vili akan terkait dengan produksi *mucin* yang berbeda. *Mucin* adalah elemen utama dari selaput lendir yang berperan dalam filtrasi, pencernaan, dan penyerapan nutrisi dalam saluran pencernaan (Montagne *et al.* 2004). Ada korelasi positif antara luas permukaan vili dan tingkat ekspresi mRNA *mucin* (Smirnov *et al.* 2006). Oleh karena itu, terdapat asumsi bahwa pemberian selenium sedini mungkin melalui pemberian makanan *in ovo* akan membantu mempercepat perkembangan usus, yang pada akhirnya bermanfaat untuk proses pencernaan dan asimilasi nutrisi.

Secara umum, perlakuan *in ovo* butirrat dibanding dengan kontrol terbukti meningkatkan luas permukaan vili mencapai 4,4 kali di duodenum ($0,036$ vs $0,008 \text{ mm}^2$), 1,9 kali di jejunum ($0,025$ vs $0,013 \text{ mm}^2$), dan 1,8 kali di ileum ($0,044$ vs $0,024 \text{ mm}^2$), sedangkan peningkatan luas permukaan vili sebagai pengaruh *in ovo* selenium mencapai 2,1 kali di duodenum ($0,017$ vs $0,008 \text{ mm}^2$), 1,3 kali di jejunum ($0,017$ vs $0,013 \text{ mm}^2$), dan 1,6 kali di ileum ($0,038$ vs $0,024$

mm²). Secara numerik ternyata perlakuan butirat memberikan kontribusi lebih baik terhadap perkembangan vili dibandingkan perlakuan selenium. Pemilihan jenis butirat dan selenium yang tepat sebagai bahan *in ovo feeding* adalah penting untuk mendapatkan respon yang baik terhadap ayam terutama dalam perkembangan vili. Berdasarkan luas permukaan vili maka kedua jenis butirat memungkinkan untuk dapat dipilih menjadi bahan *in ovo feeding* yang baik, sedangkan jenis seleniumnya dapat dipilih selenium *yeast* (SeY) atau *hydroxy-selenomethionine* (HSM). Namun tentunya aplikasi *in ovo* dari bahan-bahan tersebut akan dipengaruhi juga dengan variabel lain seperti harga dan ketersediaan bahan.

b Titer antibodi

Informasi pengaruh penggunaan suatu bahan terhadap imunitas ternak adalah penting mengingat *maternal immunity* durasinya hanya sebentar (Soares 2008) sehingga diduga tidak cukup untuk perkembangan awal ayam yang lebih baik pada kondisi saat ini. Salah satu cara untuk mengetahui informasi tersebut yaitu dengan melihat status titer antibodi. Penggunaan vaksin dapat memberikan indikator besarnya titer antibodi yang terbentuk dikarenakan vaksin mengandung bahan biologi berupa antigen yang merangsang pembentukan antibodi (Wit dan Baxendale 2000).

Nilai titer antibodi dihasilkan pada penelitian ini (Tabel 11) umumnya meningkat setelah satu minggu vaksinasi, kemudian menurun kembali setelah dua minggu vaksinasi. Hal ini diduga dikarenakan pengaruh pemberian jenis vaksinasi ND *live* (aktif) yang biasanya memberikan efek cepat terhadap pembentukan antibodi dan berbeda dengan jenis ND *Killed* (inaktif) yang responnya lebih lambat dikarenakan mengandung adjuvan berupa emulsi minyak dalam air sehingga pelepasan antigen menjadi lebih lambat, namun dapat bertahan lebih lama di dalam tubuh ayam (Aiyer-Harini *et al.* 2013). Penggunaan butirat secara *in ovo*, baik dalam bentuk sodium butirat *uncoated* (P1) maupun asam butirat murni (P2) menunjukkan pengaruh berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap titer antibodi yang terbentuk setelah satu dan dua minggu vaksinasi dibanding dengan kontrol atau perlakuan *uninjected* (P8), namun tidak beda nyata ($P > 0,05$) dibanding perlakuan antibiotik (P6).

Respon positif ini juga diperlihatkan oleh perlakuan *in ovo* selenium yang menunjukkan kecenderungan yang serupa, kecuali perlakuan sodium selenite (P5) yang nilai titer antibodinya tidak berbeda nyata dengan kontrol. Hasil ini mengindikasikan bahwa *in ovo* selenium organik memberikan respon lebih baik dibandingkan dengan selenium anorganik terhadap imunitas ayam pada awal tumbuh. Selenium organik dapat diserap dengan efisien oleh tubuh karena merupakan komponen fungsional selenoprotein tubuh serta asam amino dan penyerapannya lebih tinggi dibandingkan selenium anorganik (Payne dan Southern 2005). Rendahnya tingkat efisiensi selenium anorganik mengakibatkan jumlah atau dosis penggunaannya menjadi terkoreksi dan diperlukan penelitian lebih lanjut.

c Total dan diferensiasi leukosit

Penilaian hematologi terhadap total dan diferensiasi leukosit dapat memberikan gambaran dan status kesehatan pada hewan (Sugiharto 2014). Hasil penelitian yang tersaji pada Tabel 11 menunjukkan *in ovo* butirat dan selenium



belum memberikan dampak yang nyata terhadap total leukosit ayam kampung awal tumbuh. *In ovo* selenium yeast organik (P3) dan selenium *hydroxy-selenomethionine* (P4) cenderung menghasilkan total leukosit yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan selenium anorganik (P5) maupun kontrol (P8). Rerata total leukosit penelitian ini secara umum berkisar $25,47 - 29,16 \times 10^3 \text{ mm}^{-3}$. Nilai ini masih dalam kisaran jumlah leukosit normal untuk ayam yaitu $7 - 32 \times 10^3 \text{ mm}^{-3}$, namun sedikit lebih besar bila dibandingkan dengan penelitian Wulandari *et al.* (2014) yang menyebutkan berkisar $6,02 - 6,65 \times 10^3 \text{ mm}^{-3}$.

Pengaruh perlakuan terhadap diferensiasi leukosit (Tabel 11) menunjukkan respon yang beragam. Limfosit dan heterofil menunjukkan adanya pengaruh perbedaan perlakuan, sedangkan eosinofil, basofil dan monosit tidak berbeda untuk masing-masing perlakuan. Nilai limfosit pada semua perlakuan butir dan selenium serta perlakuan antibiotik menghasilkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kontrol. Hasil ini mengindikasikan bahwa *in ovo* selenium dan butir memberikan dampak positif dalam pembentukan antibodi terhadap antigen (benda-benda asing) dan juga dalam pengembangan imunitas seluler. Surai (2003) mengemukakan bahwa tanpa selenium sebagai komponen *glutathione* maka limfosit tidak dapat menghasilkan antibodi untuk melawan infeksi dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh.

Jenis diferensiasi leukosit lainnya yang berbeda nyata adalah heterofil. Berdasarkan data pada Tabel 1 terlihat hanya perlakuan selenium anorganik (P5) yang tidak nyata ($P > 0,05$) berbeda dengan kontrol, sedangkan perlakuan lainnya termasuk antibiotik nyata ($P < 0,05$) berbeda dengan kontrol. Respon positif ini mengindikasikan bahwa *in ovo* butir dan selenium organik memiliki peran yang baik dalam pembentukan heterofil yang bersifat fagositosis dan merupakan garis pertahanan terdepan terhadap penyakit yang mengakibatkan infeksi atau peradangan. Banyak literatur yang mengukur indeks stres ternak melalui rasio heterofil terhadap limfosit (rasio H/L) yang biasanya memiliki hubungan berlawanan (Borges *et al.* 2004). Hasil penelitian ini memperlihatkan rasio H/L tidak berbeda nyata dan nilainya di bawah 0,8 yaitu berkisar $0,62 - 0,78$ termasuk dalam tingkat stres sedang menurut Siegel (1995).

d Aktivitas enzim *glutathione peroxidase* (GSH-Px)

Selenium merupakan mineral yang penting dalam pertahanan antioksidan dan merupakan bagian penting dari enzim GSH-Px, serta sekaligus sebagai kunci efektifitas terhadap sintesis GSH-Px (Surai *et al.* 2006). Surai (2003) sebelumnya mengungkapkan bahwa GSH-Px ini memiliki peran penting dalam pertahanan antioksidan selular untuk mereduksi produk radikal bebas seperti H_2O_2 atau hidroperoksida lain menjadi air atau menjadi ikatan alkohol. Data pada Tabel 11 menunjukkan nilai rerata aktivitas enzim GSH-Px sebagai pengaruh perlakuan *in ovo* selenium pada penelitian ini berkisar $1016 - 1124 \text{ U/L}$, sedangkan perlakuan antibiotik hanya 923 U/L dan *sham* 821 U/L , serta kontrol 616 U/L .

Tabel 12 Komparatif antara *in ovo* butirat dan selenium dengan kontrol terhadap titer antibodi, total dan diferensiasi leukosit, serta aktivitas enzim *glutathione peroxidase* (GSH-Px)

Perlakuan	Titer Antibodi				Total dan Diferensiasi Leukosit					Enzim GSH-Px (U/L)	
	4 hr	11 hr	18 hr	Tot.Leukosit (x10 ³ mm ⁻³)	Limfosit	Heterofil	Rasio H/L	Eosinofil	Basofil		Monosit
Butirat (AB) vs Kontrol											
P1 (SB)	3,6	7,6ab	5,3a	28,03	41,33a	34,33a	0,62	9,66	2,33	3,33	-
P2 (ABM)	3,3	7,0ab	4,6a	28,20	54,67a	34,00a	0,67	10,66	2,66	2,33	-
P6 (Antibiotik)	3,3	8,3a	5,6a	28,03	51,66a	34,67a	0,69	10,00	2,00	2,66	-
P7 (Sham)	3,3	5,6bc	4,3ab	26,83	41,00b	30,00b	0,74	6,66	2,33	1,33	-
P8 (Kontrol)	3,3	5,0c	4,0b	25,47	39,00b	30,66b	0,78	5,66	1,67	1,33	-
SEM	0,25	0,44	0,33	0,44	1,99	0,65	0,03	0,71	0,24	0,26	-
p-value	0,9018	0,0311	0,0142	0,3143	0,0118	0,0409	0,3257	0,0740	0,8454	0,0662	-
Selenium (Se) vs Kontrol											
P3 (SeY)	3,3	7,3ab	5,0a	28,50	53,00a	35,67a	0,68	9,66	2,33	3,66	1124,1a
P4 (HSM)	3,3	7,3ab	5,0a	29,16	55,00a	34,66ab	0,63	9,33	2,00	2,00	1118,8a
P5 (SS)	3,6	5,0c	4,6ab	27,10	45,00ab	31,33bc	0,70	7,66	2,00	1,66	1016,8a
P6 (Antibiotik)	3,3	8,3a	5,6a	28,03	51,67a	34,67ab	0,68	10,00	2,00	2,66	923,2ab
P7 (Sham)	3,3	5,6bc	4,3ab	26,83	41,00b	30,00c	0,74	6,66	2,33	1,33	821,2ab
P8 (Kontrol)	3,3	5,0c	4,0b	25,47	39,00b	30,66c	0,78	5,66	1,67	1,33	616,2b
SEM	0,31	0,42	0,3	0,39	1,79	0,64	0,02	0,56	0,22	0,27	53,19
p-value	0,2575	0,0072	0,006	0,0533	0,0143	0,0115	0,4185	0,1228	0,9643	0,0779	0,0267

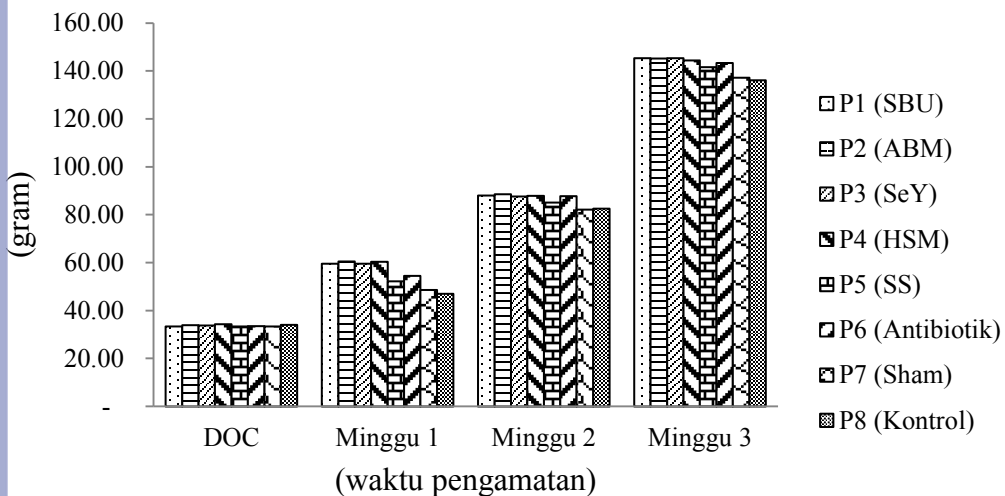
Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirat *uncoated*; ABM=Butirat murni; SeY= Selenium yeast; HSM= Hydroxy-selenomethionine; SS=Sodium selenite

Semua jenis selenium nyata ($P < 0,05$) pengaruhnya dibanding dengan kontrol terhadap aktivitas enzim *glutathione peroxidase* (GSH-Px), sedangkan perlakuan antibiotik tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), baik dengan kontrol maupun dengan perlakuan selenium. Peningkatan GSH-PX juga dilaporkan pada penelitian lain yang memberikan selenium terhadap ayam (Ibrahahim *et al.* 2020; Surai 2000). Aktivitas enzim GSH-PX sangat dipengaruhi oleh ketersediaan selenium. Jumlah selenium dalam pakan yang dihitung adalah 0,13 ppm, sehingga pemberian tambahan 0,15 ppm selenium melalui pemberian makan *in ovo* dianggap dapat melindungi perkembangan embrio dari kerusakan jaringan akibat radikal bebas dan, pada saat yang sama, meningkatkan daya tahan hingga menetas. Manfaat penting Se dikaitkan dengan kemampuannya untuk melindungi perkembangan embrio dari peroksidasi selama embriogenesis (Surai 2000).

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa perlakuan *in ovo* selenium dapat menjadi solusi untuk menanggulangi rentan timbulnya radikal bebas sebagai efek stres yang diakibatkan laju metabolisme dan konsumsi oksigen yang meningkat dengan cepat pada saat *neonatal* atau kemungkinan pengaruh *heat stress* dan cekaman lingkungan lainnya. Ketiga jenis selenium tersebut walaupun sama-sama memberikan respon positif, namun pengaruhnya terhadap parameter lainnya akan menjadi pertimbangan dalam menentukan jenis selenium yang direkomendasikan (terpilih). Pertimbangan non teknis seperti harga dan ketersediaan dari jenis-jenis selenium tersebut juga perlu diperhatikan. Selenium organik (*yeast*) memungkinkan masuk pada kriteria tersebut.

e Performa ayam awal tumbuh

Periode awal tumbuh umumnya merupakan fase penting yang dapat dijadikan indikator keberhasilan teknologi *in ovo feeding*. Pengamatan bobot badan (BB) selama tiga minggu pasca menetas tersaji pada Gambar 8, sedangkan komparatif antara *in ovo* butirat dan selenium terhadap perlakuan kontrol pada parameter pertambahan bobot badan harian (PBBH), konsumsi dan konversi pakan tersaji pada Tabel 13. Gambar 8 menunjukkan bahwa baik perlakuan butirat maupun selenium mempunyai rerata bobot badan yang lebih tinggi dibanding dengan kontrol untuk setiap minggunya. Hal ini tentunya akan memberikan korelasi positif terhadap pertumbuhan yang dicapai.



Gambar 8 Rerata bobot badan ayam umur DOC - minggu ketiga pengamatan

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel 13 Komparatif antara *in ovo* butirat dan selenium dengan kontrol terhadap pertambahan bobot badan harian (PBBH), konsumsi dan konversi pakan

Perlakuan	PBBH (g/e)			Konsumsi harian (g/e)			Konversi pakan (g/e)		
	1 Mg	2 Mg	3 Mg	1 Mg	2 Mg	3 Mg	1 Mg	2 Mg	3 Mg
Butirat vs Kontrol									
P1 (SB)	26,12a	54,63a	111,91	77,52a	167,24	346,06	2,97a	3,06a	3,09a
P2 (ABM)	26,55a	54,66a	111,30	78,54a	167,29	349,35	2,96a	3,06a	3,14a
P6 (Antibiotik)	21,05b	54,32a	109,88	64,66a	166,73	348,67	3,07ab	3,07a	3,17a
P7 (Sham)	15,14c	48,76b	103,79	48,05b	155,41	339,99	3,17bc	3,19b	3,27b
P8 (Kontrol)	13,09c	48,54b	102,20	42,54b	154,29	337,44	3,25c	3,18b	3,30b
SEM	1,63	0,93	1,36	4,39	2,34	3,59	0,03	0,02	0,02
p-value	0,0006	0,0109	0,0512	0,0011	0,1211	0,8233	0,0008	0,0001	0,0019
Selenium (Se) vs Kontrol									
P3 (SeY)	25,88a	53,84a	111,56	77,91a	165,89	347,72	3,01a	3,08a	3,11a
P4 (HSM)	26,05a	53,55a	110,07	77,64a	165,09	343,29	2,98a	3,08a	3,12a
P5 (SS)	18,83bc	51,78ab	108,27	55,13b	162,83	347,85	3,14bc	3,14ab	3,21bc
P6 (Antibiotik)	21,05ab	54,32a	109,88	64,66ab	166,73	348,67	3,07ab	3,06a	3,17ab
P7 (Sham)	15,14bc	48,76b	103,79	48,05bc	155,41	339,99	3,17bc	3,19b	3,27cd
P8 (Kontrol)	13,09c	48,54b	102,20	42,54c	154,29	337,44	3,25c	3,18b	3,30d
SEM	1,35	0,71	1,09	3,76	1,83	2,86	0,03	0,01	0,02
p-value	0,0033	0,0173	0,0635	0,0056	0,1985	0,8963	0,0033	0,0193	0,0012

Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirat berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirat uncoated; ABM=Asam butirat murni; SeY=Selenium yeast; HSM= Hydroxy-selenomethionine; SS=Sodium selenite

Rentang bobot badan selama 3 minggu adalah 47,12 – 60,44 g (minggu 1), 82,55 – 87,94 g (minggu 2), dan 136,22 – 145,33 g (minggu 3). Rata-rata pertambahan bobot badan harian ayam KUB pada hari ke 0–7 dan 0–14 dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan ($P < 0,05$). Namun pengaruhnya tidak signifikan ($P > 0,05$) saat pengamatan dilakukan pada hari ke 0–21, meskipun terdapat kecenderungan perbedaan antara perlakuan selenium dan kontrol. Dua minggu pertama masa pertumbuhan sangat penting karena periode ini sangat memungkinkan anak ayam mudah terpapar penyakit sehingga diperlukan kondisi imunitas yang tinggi untuk mencegah penyakit tersebut.

In ovo butirat dan selenium memberikan dampak terhadap tingkat efisiensi pakan yang lebih baik pada awal tumbuh ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB). *Intake* atau tingkat konsumsi pakan walaupun tidak berbeda untuk semua perlakuan, kecuali pada pengamatan minggu kesatu, namun perlakuan *in ovo* butirat dan selenium terbukti dapat menghasilkan kemampuan mengonversi pakan yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Hal ini kemungkinan berkaitan erat dengan adanya perbaikan luas permukaan vili seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Perkembangan vili usus yang cepat berguna untuk pencernaan dan asimilasi nutrisi sehingga menghasilkan peningkatan berat badan yang lebih baik (Jia *et al.* 2011). Terbentuknya titer antibodi, diferensiasi leukosit dan aktivitas enzim *glutathione peroxidase* (GSH-Px) yang lebih baik diduga kuat menjadi faktor pendukung pertumbuhan ayam kampung yang diberi perlakuan *in ovo* butirat dan selenium menjadi lebih baik juga. *In ovo* selenium pernah dilaporkan pada ayam broiler terbukti dapat meningkatkan perkembangan usus, bobot badan dan pertumbuhan serta konversi pakan sehingga menghasilkan tampilan awal tumbuh yang lebih baik (Hasan 2018), sedangkan *in ovo* asam butirat juga pernah dilaporkan mempunyai respon yang serupa (Tako *et al.* 2004; Salahi *et al.* 2011)

4.5 Simpulan

Perlakuan *in ovo* butirat dan selenium mempunyai kecenderungan yang sama yaitu berpengaruh nyata terhadap luas permukaan vili, titer antibodi, persentase limfosit dan heterofil, kecuali selenium anorganik yang masih belum optimal dampaknya terhadap titer antibodi dan total/diferensiasi leukosit. Asam butirat murni efektif untuk perkembangan vili di usus halus bagian depan, sedangkan sodium butirat efektif di usus halus bagian tengah dan akhir. Semua jenis selenium terbukti dapat meningkatkan aktivitas enzim *glutathione peroxidase* (GSH-Px). Sodium butirat dan selenium organik *yeast* (SeY) dapat direkomendasikan sebagai jenis butirat dan selenium terpilih untuk bahan nutrisi *in ovo feeding*.

5 PEMBERIAN KOMBINASI SODIUM BUTIRAT DAN SELENIUM YEAST SECARA *IN OVO* TERHADAP PRODUKTIVITAS AYAM LOKAL

5.1 Abstrak

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan formulasi bahan *in ovo feeding* (IOF) terbaik menggunakan kombinasi sodium butirat dengan selenium, serta pengaruhnya terhadap respon pertumbuhan dan imunitas ayam lokal. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial 3 x 3. Faktor pertama adalah tiga level penggunaan sodium butirat (SB) dan faktor kedua adalah tiga level penggunaan selenium *yeast* (SeY) yang diinjeksikan pada amnion telur umur 18 hari inkubasi. Parameter diamati meliputi berat dan daya tetas, luas permukaan vili, titer antibodi, total dan diferensiasi leukosit, pertumbuhan, konsumsi dan konversi pakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat indikasi kombinasi SB dengan SeY secara *in ovo feeding* memberikan pengaruh permanen bukan hanya pada awal tumbuh saja, melainkan untuk fase pertumbuhan berikutnya. Perlakuan mengandung 30 mg sodium butirat dengan 0,3 ppm selenium *yeast* merupakan kombinasi yang menghasilkan luas permukaan vili di jejunum dan ileum, serta tingkat efisiensi pakan dan pertumbuhan terbaik dari ayam KUB

Kata kunci: ayam lokal, butirat, imunitas, *in ovo*, performa, selenium, vili

5.2 Pendahuluan

Upaya pemberian nutrisi pakan sedini mungkin (*early feed*) telah banyak dicoba seperti pemberian pakan di mesin tetas, pemberian pakan di box saat transportasi, dan pemberian pakan kualitas tinggi pada DOC segera setelah datang di kandang (*farm*). Namun upaya tersebut banyak terkendala secara teknis dan pengaruhnya pun tidak signifikan. Adanya teknologi *in ovo feeding* (IOF) adalah sebuah terobosan di bidang pakan yang mempunyai potensi cukup besar untuk dapat meningkatkan produktivitas ternak. Teknologi ini dilaporkan dapat memberikan pengaruh yang cukup baik sesuai dengan fungsi dari bahan nutrisi yang digunakan.

Penggunaan butirat dan selenium sebagai bahan nutrisi *in ovo feeding* (IOF) telah banyak dicoba baik secara tunggal (terpisah), maupun dikombinasikan dengan bahan nutrisi lainnya. Sejauh ini belum ada laporan yang menggabungkan penggunaan butirat dengan selenium, baik itu melalui pemberian pakan konvensional ataupun melalui teknik *in ovo feeding*. Pada prinsipnya, kedua bahan tersebut berorientasi terhadap terciptanya kondisi ternak secara fisiologis maupun metabolis dengan baik untuk mendapatkan produktivitas yang baik pula. Produk butirat dan selenium cukup beragam di pasaran. Oleh karena itu perlu terlebih dahulu dipilih jenis dari kedua bahan tersebut yang terbaik sebelum dikombinasikan.

Hasil penelitian pada tahap sebelumnya yang bertujuan untuk mendapatkan jenis butirat dan selenium terbaik menunjukkan bahwa sodium butirat dan asam butirat murni keduanya memiliki pengaruh yang positif terhadap performa ternak

ayam lokal. Begitu juga dengan selenium organik *yeast* (SeY) dan *hydroxy-selenomethionine* (HSM). Namun karena pertimbangan aspek lain terutama harga bahan dan ketersediaannya maka sodium butirat (SB) dan selenium *yeast* (SeY) menjadi bahan nutrisi IOF terpilih untuk dikombinasikan. Kombinasi dari kedua bahan tersebut adalah sebuah *novelty* yang menarik untuk dikaji lebih mendalam, apalagi penggunaannya difokuskan kepada ayam lokal yang informasinya sangat terbatas. Berdasarkan pemikiran dan pertimbangan tersebut maka dilakukan penelitian penggunaan kombinasi sodium butirat dan selenium *yeast* melalui teknologi *in ovo feeding* (IOF) untuk meningkatkan produktivitas ayam lokal.

Tujuan jangka pendek penelitian adalah mendapatkan informasi respon perkembangan vili, imunitas dan pertumbuhan ayam lokal terhadap penggunaan kombinasi *in ovo* sodium butirat dengan selenium *yeast*. Selain itu diharapkan juga diperoleh produk formulasi bahan *in ovo feeding* (IOF) terbaik menggunakan kombinasi SB dengan SeY. Adapun tujuan jangka panjang penelitian adalah pemanfaatan teknologi dan produk formulasi bahan *in ovo feeding* (IOF) yang dapat menggantikan peran antibiotik pada ayam lokal maupun unggas lainnya.

5.3 Metode

a Lokasi dan materi penelitian serta kliren etik

Proses formulasi bahan IOF, injeksi, inkubasi dan pengukuran parameter pertumbuhan dilakukan di laboratorium Balai Penelitian Ternak Ciawi, sedangkan pengukuran parameter imunitas dilakukan di Balai Besar Veteriner Bogor. Penelitian menggunakan telur fertil ayam Kampung Unggul Balitbangtan (KUB) yang dipelihara oleh salah satu mitra lisensi dengan umur induk dan kandang (*flok*) yang sama. Terdapat satu jenis butirat dan satu jenis selenium yang terpilih dari hasil penelitian tahap sebelumnya (uji *screening* bahan) yang telah dijabarkan pada Bab 4. Jenis butirat tersebut adalah sodium butirat *uncoated* (SB) sedangkan jenis seleniumnya adalah selenium *yeast* (SeY) yang keduanya dibeli dari distributor pakan aditif. Penelitian ini telah mendapatkan Klirens Etik Perlakuan dan Penggunaan Hewan Coba dari The Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC), Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD) Nomor Balitbangtan/Balitnak/A/02/2019.

b Prosedur penelitian sebelum menetas

Sebanyak 675 telur fertil ayam KUB (75 telur / kombinasi perlakuan) digunakan pada penelitian tahap ini. Rancangan yang digunakan yaitu model Rancangan Acak Lengkap Faktorial 3 x 3. Faktor pertama adalah tiga level penggunaan sodium butirat dan faktor kedua adalah tiga level penggunaan selenium sehingga ada 9 kombinasi perlakuan seperti terlihat pada Tabel 14.

Kombinasi bahan IOF yang terdiri dari sodium butirat *uncoated* (SB) dengan selenium *yeast* (SeY) dilarutkan terlebih dahulu dalam *phosphate-buffered saline* (PBS) dengan volume 0,5 ml/injeksi/telur. Prosedur injeksi IOF merujuk pada metode Sogunle *et al.* (2018) yang telah dimodifikasi pada tahap penelitian sebelumnya dan tersaji pada Bab 3. Injeksi dilakukan secara manual saat telur yang diinkubasi pada hari ke 18 dipindahkan dari *setter* ke *hatcher*. Proses injeksi

dilakukan pada bagian amnion menggunakan jarum 20G dengan panjang 0,8–0,9 cm tanpa perlakuan penutupan kerabang bekas injeksi. Telur yang sudah menerima injeksi IOF kemudian dimasukkan ke mesin *hatcher* dengan suhu 98–99 °F (37–38 °C) dan kelembaban 86–88 % hingga telur menetas.

Tabel 14 Kombinasi perlakuan *in ovo* sodium butirat dengan selenium *yeast*

Level penggunaan SB (mg)	Level penggunaan SeY (ppm)		
	0,0	0,15	0,30
0	A	D	G
15	B	E	H
30	C	F	I

c Prosedur penelitian setelah menetas

Setelah menetas, anak ayam ditempatkan dalam kandang kawat berukuran 90x50x90 cm², yang berada 40 cm di atas lantai. Jumlah kombinasi perlakuan pada tahap ini disesuaikan dengan jenis perlakuan injeksi telur yaitu sembilan perlakuan dengan model Rancangan Acak Lengkap Faktorial 3 x 3. Faktor pertama adalah tiga level penggunaan sodium butirat dan faktor kedua adalah tiga level penggunaan selenium sehingga ada sembilan kombinasi perlakuan. Pada penelitian ini tidak dilakukan *sexing (unisex)*. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak lima kali sehingga total ada 45 kandang dengan tujuh ekor anak ayam di setiap kandangnya. Analisis data menggunakan sidik ragam (ANOVA). Apabila hasil uji tersebut berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel dan Torrie 1991), sedangkan proses pengolahannya menggunakan software SAS versi 9 (2003). Model persamaannya sebagai berikut.

$$Y R_{ijk} = \mu + \alpha R_i + \beta R_j + (\alpha\beta)R_{ij} + \epsilon R_{ijk}$$

dimana : $Y R_{ijk}$ = Nilai pengamatan pada faktor A level ke-i, faktor B level ke-j dan kelompok ke-k
 μ = Rerata umum
 αR_i = Pengaruh faktor A level ke-i
 βR_j = Pengaruh faktor B level ke-j
 $(\alpha\beta)R_{ij}$ = Pengaruh interaksi faktor A level ke-i, faktor B level ke-j
 ϵR_{ijk} = Pengaruh galat pengamatan faktor A level ke-i, faktor B level ke-j dan kelompok ke-k

Kandang ditempatkan pada ruangan yang dilengkapi dengan pemanas otomatis (*heater*) untuk mengontrol suhu sehingga lampu hanya berfungsi sebagai penerangan. Temperatur diatur 32–35°C (umur 1–7 hari), 29–31 °C (umur 8-21 hari), dan 27–29 °C (umur >22 hari). Pakan dan minum diberikan secara *adlibitum* selama 10 minggu. Tidak ada perbedaan formulasi pakan untuk semua perlakuan. Pakan disusun mengacu kepada rekomendasi NRC (1994). Bahan pakan yang digunakan terdiri dari: 63,14 % jagung lokal, 32,29 % bungkil kedelai, 0,38 % minyak sawit (CPO), 1,69 % limestone, 1,63 % MDC Phosphate, 0,46 % garam, 0,25 % premix, dan 0,16 % DL-methionine. Kandungan nutrisi yang dihitung adalah: bahan kering (91,45%) protein kasar (20,00%), energi yang dapat dimetabolisme sebesar 2850 kkal / kg, serat kasar (4,66%), lemak kasar (3,03%), abu (7,48%), kalsium (1,00 %), dan fosfor (0,45%), lisin (1,055%) dan metionin (0,477%). Total selenium dalam pakan dapat dihitung sebanyak 0,13 ppm.

d Paramater penelitian

Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi; berat dan daya tetas, titer antibodi, total dan diferensiasi leukosit, luas permukaan vili, dan performa pertumbuhan ayam yang terdiri dari bobot badan, penambahan bobot badan, konsumsi dan konversi pakan. Berat tetas diukur menimbang ayam baru menetas, sedangkan persentase daya tetas dihitung dengan membagi jumlah anak ayam yang menetas dengan jumlah telur yang diinjeksi kemudian dikali 100%. Secara umum, pengukuran parameter pada penelitian tahap ini sama dengan yang dilakukan pada tahap sebelumnya. Prosedur pengukuran luas permukaan vili dijelaskan pada Bab 3, sedangkan prosedur pengukuran titer antibodi, total dan diferensiasi leukosit, dan performa pertumbuhan ayam dijelaskan pada Bab 4. Hanya saja ada sedikit perbedaan dalam waktu pengukuran performa pertumbuhan yaitu selama sepuluh minggu pada tahap penelitian ini, sedangkan pada tahap sebelumnya (Bab 4) hanya tiga minggu pengamatan.

5.4 Hasil dan Pembahasan

a Bobot dan daya tetas

Data bobot telur umur 18 hari inkubasi serta rerata bobot tetas dan persentase daya tetas setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15 Rerata bobot telur 18 hari inkubasi serta bobot tetas dan persentase daya tetas setiap perlakuan

Parameter	A	B	C	D	E	F	G	H	I	Rerat a
Bobot telur 18 hari inkubasi (g)	41,02	42,09	41,46	42,03	40,99	40,28	40,76	41,81	41,67	41,35
bobot tetas (g)	33,13	34,08	33,77	34,39	33,15	33,50	32,85	34,35	33,63	33,65
Tidak menetas (%)	5,00	2,50	10,00	12,50	10,00	-	2,50	7,50	10,00	6,67
Daya Tetas (%)	95,00	97,50	90,00	87,50	90,00	100,0	97,50	92,50	90,00	93,33
• DOC mati di mesin tetas (%)	-	10,00	-	2,50	-	5,00	2,50	-	-	2,22
• DOC hidup lemah (%)	-	-	7,50	-	-	2,50	-	-	-	1,11
• DOC Available (%)	95,00	87,50	82,50	85,00	90,0	92,50	95,00	92,50	90,00	90,00

Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). A=(0,0Se : 0,0SB); B=(0,0Se : 15,0SB); C=(0,0Se : 30,0SB); D=(0,15Se : 0,0SB); E=(0,15Se : 15,0SB); F=(0,15Se : 30,0SB); G=(0,30Se : 0,0SB); H=(0,30Se : 15,0SB); I=(0,30Se : 30,0SB)

Telur tetas yang digunakan untuk semua perlakuan cukup seragam dengan nilai rerata bobotnya pada saat 18 hari inkubasi adalah 41,35 g. Tidak ada perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) pengaruh perlakuan terhadap rerata bobot tetas dan daya tetas. Nilai rerata kedua parameter tersebut masing-masing adalah 33,65 g dan 93,33%. Hal ini banyak juga dilaporkan pada penelitian lainnya bahwa perlakuan *in ovo feeding* tidak berpengaruh terhadap berat dan bobot tetas (Hassan 2018; Sogunle *et al.* 2018; Joshua *et al.* 2016), walaupun ada juga yang melaporkan dapat meningkatkan daya tetas (Macalintal 2012; Abbas *et al.* 2020). Secara numerik, kombinasi 0,15 Se dengan 30,0 butirat (perlakuan F)

menghasilkan daya tetas tertinggi yaitu 100%, namun mengingat ada DOC yang mati di mesin tetas dan hidup lemah maka kombinasi A dan G menunjukkan DOC *available* yang paling tinggi yaitu 95% walaupun tidak nyata berbeda ($P>0,05$) dengan kombinasi lainnya.

b Luas permukaan vili umur 7 hari

Pengaruh perlakuan kombinasi sodium butirat dengan selenium *yeast* terhadap luas permukaan beberapa bagian vili dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16 Luas permukaan vili ayam KUB umur 7 hari

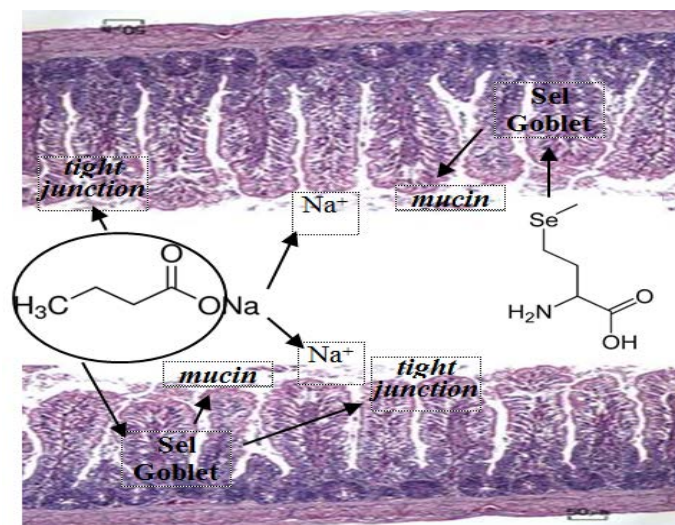
Luas Permukaan Villi	Level SB (mg)	Level SeY (ppm)			Rerata	SEM	p-value
		0	0,15	0,30			
Duodenum (mm ²)	0	0,019	0,025	0,022	0,022 b	1,14	0,0024
	15	0,026	0,032	0,030	0,030 a		
	30	0,027	0,033	0,031	0,030 a		
	Rerata	0,024	0,030	0,028			
	SEM						
	p-value	0,0692				0,9996	
Jejunum (mm ²)	0	0,016 b	0,018 b	0,018 c		0,86	0,0001
	15	0,019 aY	0,025 aX	0,025 bX			
	30	0,020 aZ	0,026 aY	0,033 aX			
	SEM						
	p-value	0,0001					
Ileum (mm ²)	0	0,014	0,021	0,022	0,019 b	0,84	0,0001
	15	0,023	0,028	0,029	0,027 a		
	30	0,023	0,032	0,030	0,028 a		
	Rerata	0,020 Y	0,027 X	0,027 X			
	SEM						
	p-value	0,0001				0,3960	

Angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda pada kolom atau huruf kapital yang berbeda pada baris menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$). SB=Sodium butirat; Se=Seelenium *yeast*; SEM=Standard error of measurement

Berdasarkan data Tabel 16 menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara sodium butirat dengan selenium *yeast* terhadap luas permukaan vili di bagian duodenum. Penggunaan sodium butirat (SB) pada level 15 mg nyata berbeda ($P<0,05$) dibandingkan dengan level 0 mg, namun tidak nyata ketika level penggunaannya ditingkatkan menjadi 30 mg. Penggunaan selenium *yeast* (SeY) tidak mempengaruhi luas permukaan vili di duodenum. Terdapat dugaan bahwa vili di duodenum belum berkembang dengan baik, mengingat pengaruh perlakuan SeY dan SB nyata pada luas permukaan vili di bagian jejunum. Terdapat pengaruh interaksi antara kedua bahan IOF tersebut terhadap luas permukaan vili pada jejunum. Pada level 0 mg SB menunjukkan penggunaan SeY tidak terlihat pengaruhnya, sedangkan pada level 15 dan 30 mg SB menunjukkan pengaruh SeY pada level 0,15 dan 0,30 ppm nyata lebih baik dibandingkan level 0 ppm. Kombinasi perlakuan terbaik adalah 30 mg SB dengan 0,30 ppm SeY.

Butirat mempunyai keterkaitan dengan poliferasi sel sehingga sangat memungkinkan memengaruhi sel-sel globet pada vili usus berkembang lebih baik (Tako *et al.* 2004; Salahi *et al.* 2011; Salmanzadeh *et al.* 2015). Dampaknya

adalah laju metabolisme yang tinggi dan memicu tingkat stres sehingga kebutuhan antioksidan sangat diperlukan. Oleh karena itu selenium berperan penting memberikan efek sinergis dalam pembentukan luas permukaan vili usus yang baik. Diketahui bahwa selenium juga dapat berpengaruh positif terhadap perkembangan vili (Chandiranathan *et al.* 2107). Selain itu perkembangan vili besar kemungkinan terkait dengan produksi *mucin* yaitu elemen utama dari selaput lendir yang berperan dalam filtrasi, pencernaan, dan penyerapan nutrisi dalam saluran pencernaan (Montagne *et al.* 2004). Biasanya luas permukaan vili berkorelasi positif dengan tingkat ekspresi mRNA *mucin* (Smirnov *et al.* 2006). Hal ini menjadi logis apabila level tertinggi dari penggunaan sodium butirat dan selenium *yeast* pada penelitian ini menjadi kombinasi terbaik dalam menghasilkan luas permukaan vili yang baik. Dugaan mekanisme kerja dari kombinasi kedua bahan tersebut di vili dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9 Visualisasi mekanisme kerja kombinasi SB dengan SeY di usus

Asumsi pada Gambar 9 menunjukkan bahwa besar kemungkinan asam butirat (sodium butirati) dan selenium (*Hydroxy-selenomethionine*) bekerja dengan mekanismenya masing-masing. Artinya tidak terjadi reaksi dari keduanya untuk membentuk senyawa baru yang mempunyai spesifik fungsi terhadap vili. Adapun efek sinergis dari keduanya lebih kepada optimalisasi fungsi kedua bahan tersebut dalam memperbaiki dan mendukung perkembangan vili dengan baik. Garam natrium yang menjadi *carrier* asam butirat akan terdisosiasi di dinding usus atau dengan kata lain natrium akan kembali terpisah karena sebagai katalis saja fungsinya. Selain itu butirat dan selenium juga akan memengaruhi sel-sel goblet dalam memproduksi *mucin* serta mengoptimalkan *tight junction*.

Sedikit berbeda dengan yang terjadi pada luas permukaan vili di ileum, pengaruh interaksi dari kedua bahan IOF tidak terlihat, namun masing-masing bahan baik selenium *yeast* maupun sodium butirat nyata berpengaruh terhadap parameter yang diamati. Data pada Tabel 16 menunjukkan bahwa tidak diperoleh pengaruh perlakuan yang nyata akibat peningkatan level penggunaan dari 15 ke 30 mg untuk sodium butirat (SB) dan 0,15 ke 0,30 ppm untuk selenium *yeast* (SeY). Hasil ini mengindikasikan bahwa level 15 mg SB dan 0,15 ppm SeY sudah cukup dalam memperbaiki luas permukaan vili di ileum.

c Titer antibodi

Pengaruh perlakuan kombinasi sodium butirat (SB) dengan selenium *yeast* (SeY) terhadap pembentukan titer antibodi dapat dilihat pada Tabel 17. Berdasarkan data pada Tabel 17 terlihat bahwa kombinasi SB dengan SeY sebagai bahan IOF belum terlihat pengaruhnya di awal menetas. Informasi pengaruh penggunaan suatu bahan terhadap imunitas ternak adalah penting mengingat *maternal immunity* durasinya hanya sebentar (Soares 2008) sehingga diduga tidak cukup untuk perkembangan awal ayam pada kondisi saat ini. Cara untuk mengetahui informasi tersebut yaitu dengan melihat status titer antibodi. Penggunaan vaksin dapat memberikan indikator besarnya titer antibodi yang terbentuk dikarenakan vaksin mengandung bahan biologi berupa antigen yang merangsang pembentukan antibodi (Wit dan Baxendale 2000).

Tabel 17 Titer Antibodi ayam KUB

Titer Antibodi hari ke-	Level SB (mg)	Level SeY (ppm)			Rerata	SEM	p-value
		0	0,15	0,30			
H 4 / pra vaksin (Log2)	0	4,80	5,00	4,60	4,80	0,12	0,2430
	15	4,40	4,00	4,60	4,33		
	30	4,60	4,40	4,20	4,44		
	Rerata	4,60	4,47	4,47			
	SEM						
	p-value	0,8724					0,6654
H 11 (Log2)	0	5,40	6,20	5,40	5,67	0,17	0,8348
	15	5,80	5,60	6,00	5,80		
	30	6,00	5,40	6,40	5,93		
	Rerata	5,73	5,73	5,93			
	SEM						
	p-value	0,8732					0,5371
H 18 (Log2)	0	7,40	7,80	7,60	7,60	0,11	0,0505
	15	7,60	7,80	8,60	8,00		
	30	7,80	8,40	8,40	8,20		
	Rerata	7,60	8,00	8,20			
	SEM						
	p-value	0,0505					0,4756

Angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda pada kolom atau huruf kapital yang berbeda pada baris menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirat; Se=Seelenium *yeast*; SEM= *Standard error of measurement*

Penggunaan vaksin jenis ND *Killed* (inaktif) pada penelitian ini responnya lebih lambat dikarenakan mengandung adjuvan berupa emulsi minyak dalam air sehingga pelepasan antigen menjadi lebih lambat, namun dapat bertahan lebih lama di dalam tubuh ayam (Aiyer-Harini *et al.* 2013). Pengaruh perlakuan IOF baru terlihat setelah dua minggu vaksinasi atau saat umur ayam 18 hari. Terdapat kecenderungan bahwa titer antibodi semakin baik sejalan dengan meningkatnya level penggunaan SB dan SeY, namun kedua bahan IOF tersebut tidak memberikan pengaruh interaksi yang nyata terhadap titer antibodi. Hal ini wajar mengingat mekanisme pembentukan imunitas antara SB dengan SeY berbeda. Bahkan ada dugaan bukan dosis seleniumnya yang berpengaruh melainkan *yeast*



wall dalam bentuk β glucan yang dipakai sebagai pembentuk imunitas. β glucan adalah rantai karbohidrat yang tidak bisa dicerna dan dapat terikat bersama dengan makrofag dan sel *natural killer* (NK) yang memicu proses aktivasi makrofag membentuk imunitas (Pelizon *et al.* 2005).

d Total dan diferensiasi leukosit

Pengaruh kombinasi *in ovo* sodium butirat dengan selenium *yeast* terhadap jumlah leukosit dan diferensiasinya tersaji pada Tabel 18.

Tabel 18 Total dan diferensiasi leukosit ayam KUB

Parameter	Level SB (mg)	Level SeY (ppm)			Rerata	SEM	p-value	
		0	0,15	0,30				
Leukosit ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	0	20,23 bY	24,84 cX	27,57 X			0,0001	
	15	26,03 abY	34,17 bX	32,04 X				
	30	27,60 aY	59,51 aX	34,72 Y				
	SEM					1,76		
	p-value		0,0001					0,0001
Limfosit (%)	0	57,40 Y	62,00 XY	63,60 bX			0,9923	
	15	60,40	62,00	60,80 ab				
	30	60,60 Y	64,00 X	58,80 aY				
	SEM					0,50		
	p-value		0,0191					0,0318
Heterofil (%)	0	27,20	28,20	28,40	27,93 b		0,0031	
	15	29,20	28,80	29,80	29,27 b			
	30	29,00	32,60	31,80	31,13 a			
	Rerata	28,47	29,87	30,00				
	SEM					0,41		
p-value		0,1626				0,4645		
Eusinofil (%)	0	5,40 bY	7,20 X	6,60 XY			0,9815	
	15	6,80 ab	6,20	6,20				
	30	7,20 aX	6,00 Y	5,80 Y				
	SEM					0,17		
	p-value		0,7433					0,0285
Basofil (%)	0	1,00	1,00	1,00	1,00		0,3832	
	15	1,20	1,00	1,00	1,07			
	30	1,00	1,00	1,00	1,00			
	Rerata	1,07	1,00	1,00				
	SEM					0,02		
p-value		0,3832				0,4279		
Monosit (%)	0	1,80	1,60	1,60	1,67 b		0,0054	
	15	2,40	2,00	2,20	2,20 a			
	30	2,20	2,40	2,60	2,40 a			
	Rerata	2,13	2,13	2,20				
	SEM					0,09		
p-value		0,7795				0,7122		

Angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda pada kolom atau huruf kapital yang berbeda pada baris menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirat; Se=Seelenium *yeast*; SEM=Standard error of measurement

Hasil penelitian yang tersaji pada Tabel 18 menunjukkan bahwa *in ovo* kombinasi sodium butirat (SB) dengan selenium *yeast* (SeY) nyata pengaruhnya ($P < 0,05$) terhadap total leukosit. Hasil ini mengindikasikan bahwa *in ovo* kombinasi SB dan SeY memberikan dampak positif dalam pembentukan antibodi terhadap antigen (benda-benda asing) dan juga dalam pengembangan imunitas seluler. Terjadi pengaruh interaksi ($P < 0,05$) kedua bahan IOF tersebut dalam membentuk jumlah leukosit. Kombinasi 0,15 ppm selenium (SeY) dengan 30 mg sodium butirat (SB) adalah perlakuan kombinasi terbaik terhadap jumlah leukosit yang dihasilkan. Kombinasi tersebut juga merupakan terbaik dalam menghasilkan persentase limfosit. Peningkatan jumlah Se dari 0,15 ppm menjadi 0,30 ppm pada level penggunaan 30 mg SB ternyata memberikan pengaruh kurang baik untuk limfosit, bahkan pada level penggunaan 15 mg SB ternyata peningkatan jumlah SeY tidak nyata berpengaruh. Limfosit biasanya tidak melakukan endositosis, melainkan memerangi penyakit dengan ikut serta dalam pembentukan antibodi. Limfosit berfungsi terhadap pengenalan dan penghancuran dari berbagai tipe-tipe patogen dalam tubuh.

Pengaruh interaksi juga terjadi pada diferensiasi leukosit jenis eosinofil. Peningkatan level penggunaan SB tidak memberikan pengaruh yang lebih baik pada kenaikan level penggunaan Se dalam pembentukan eosinofil. Kombinasi perlakuan tidak nyata terhadap basofil, namun peningkatan level penggunaan sodium butirat nyata pengaruhnya ($P < 0,05$) terhadap persentase heterofil dan monosit. Heterofil diketahui bersifat fagositosis dan merupakan garis pertahanan terdepan terhadap penyakit yang mengakibatkan infeksi atau peradangan, sedangkan monosit bersifat fagositosis terhadap parasit-parasit diluar sel seperti virus dan beberapa bakteri atau bahkan terhadap benda-benda asing dalam tubuh

e Bobot badan dan pertumbuhan

Pengaruh perlakuan kombinasi sodium butirat (SB) dengan selenium *yeast* (SeY) terhadap bobot badan dan pertumbuhan selama 10 minggu dapat dilihat pada Tabel 19 dan Tabel 20. Secara umum, faktor yang berpengaruh nyata terhadap bobot badan dan pertumbuhan adalah faktor sodium butirat. Peningkatan level penggunaan sodium butirat terbukti menghasilkan rerata bobot badan dan pertumbuhan yang nyata berbeda ($P < 0,05$) lebih baik setiap dua minggu pengamatan selama 10 minggu. Hal ini kemungkinan besar karena adanya korelasi antara perkembangan vili yang baik akan menghasilkan performa pertumbuhan yang baik pula. Banyak penelitian melaporkan bahwa *in ovo* butirat berpengaruh terhadap perkembangan vili baik ukuran maupun morfologinya sekaligus mendukung tercapainya bobot badan yang lebih baik (Tako *et al.* 2004; Salahi *et al.* 2011; Salmanzadeh *et al.* 2015).

Respon berbeda terjadi pada peningkatan level penggunaan selenium *yeast* yang hanya berpengaruh nyata pada pertumbuhan selama dua minggu saja. Hal ini juga terjadi pada penelitian sebelumnya yang telah dijelaskan pada Bab 4 menunjukkan bahwa menggunakan selenium secara terpisah (tunggal/ tanpa kombinasi) melalui teknologi *in ovo feeding* memberikan pengaruh yang nyata terhadap rerata bobot badan pada pengamatan 0–7 hari dan 0–14 hari, namun tidak signifikan pengaruhnya saat pengamatan dilakukan selama 0–21 hari. Lebih lanjut dijelaskan bahwa dua minggu pertama masa pertumbuhan sangat penting karena periode ini sangat memungkinkan anak ayam mudah terpapar penyakit

sehingga diperlukan selenium untuk memastikan kondisi imunitas yang tinggi dalam mencegah penyakit tersebut. Selain itu juga tentunya berkaitan erat dengan luas permukaan vili yang telah dibahas sebelumnya pada Tabel 16. Hampir setiap peningkatan level penggunaan sodium butirat menghasilkan luas permukaan vili yang lebih baik pada setiap level penggunaan selenium, namun berbeda halnya dengan peningkatan level penggunaan selenium *yeast* yang menunjukkan luas vili yang tidak selalu nyata lebih baik seperti terlihat pada bagian vili duodenum.

Tabel 19 Bobot badan ayam KUB

Parameter	Level SB (mg)	Level SeY (ppm)			Rerata	SEM	p-value
		0	0,15	0,30			
Bobot DOC (g)	0	33,97	34,02	33,90	33,96	0,06	0,9133
	15	34,05	33,99	34,00	34,01		
	30	34,03	34,04	34,01	34,03		
	Rerata	34,02	34,02	33,97			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,9431				0,9974	
Bobot Badan 2 Mg (g)	0	86,54	87,32	87,53	87,13 b	0,51	0,0007
	15	87,86	91,11	91,15	90,04 a		
	30	88,12	93,17	92,50	91,26 a		
	Rerata	87,51	90,53	90,39			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0066				0,4926	
Bobot Badan 4 Mg (g)	0	181,15	183,46	188,26	184,29 b	1,88	0,0014
	15	190,76	195,18	195,35	193,77 a		
	30	191,02	200,35	208,02	199,79 a		
	Rerata	187,64	192,99	197,21			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0624				0,7276	
Bobot Badan 6 Mg (g)	0	386,92	393,24	398,59	392,92 b	4,27	0,0077
	15	401,61	411,17	414,15	408,98 ab		
	30	403,24	427,86	443,13	424,74 a		
	Rerata	397,26	410,76	418,62			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0892				0,7449	
Bobot Badan 8 Mg (g)	0	591,60	598,79	608,65	599,68 b	5,85	0,0070
	15	613,10	627,37	630,20	623,56 ab		
	30	618,52	645,16	667,96	643,88 a		
	Rerata	607,74	623,77	635,60			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,1160				0,8373	
Bobot Badan 10 Mg (g)	0	770,02bY	785,55cXY	801,91 cX		5,40	0,0001
	15	806,80 a	824,61 b	828,34 b			
	30	813,09aZ	854,82 aY	886,01 aX			
	Rerata						
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0001				0,0090	

Angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda pada kolom atau huruf kapital yang berbeda pada baris menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirat; Se=Seelenium *yeast*; SEM=Standard error of measurement

Pengaruh interaksi terlihat pada pengamatan bobot badan dan pertumbuhan selama 10 minggu. Pertumbuhan memiliki pola terus meningkat sejalan dengan meningkatnya level penggunaan sodium butirat dan selenium *yeast*. Kombinasi yang menghasilkan pertumbuhan terbaik adalah mengandung 30 mg sodium butirat dengan 0,3 ppm selenium *yeast*. Kombinasi perlakuan tersebut mempunyai level penggunaan tertinggi dari kedua bahan tersebut. Hal ini sekaligus mengindikasikan bahwa kebutuhan sodium butirat dan selenium *yeast* di daerah tropis memungkinkan lebih tinggi dibandingkan standar umum yang direkomendasikan.

Tabel 20 Pertambahan bobot badan ayam KUB

Parameter	Level SB (mg)	Level SeY (ppm)			Rerata	SEM	<i>p-value</i>
		0	0,15	0,30			
PBB 0-2 Mg (g)	0	52,57	53,29	53,63	53,16 b	0,52	0,0015
	15	53,82	57,12	57,15	56,03 a		
	30	54,09	59,13	58,49	57,24 a		
	Rerata	53,49 Y	56,51 X	56,42 X			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0100					0,5431
PBB 0-4 Mg (g)	0	147,18	149,44	154,36	150,33 b	1,88	0,0015
	15	156,71	161,19	161,35	159,75 a		
	30	156,99	166,31	174,01	165,77 a		
	Rerata	153,63	158,98	163,24			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0616					0,7291
PBB 0-6 Mg (g)	0	352,95	359,22	364,70	358,95 b	4,28	0,0079
	15	367,56	377,18	380,16	374,96ab		
	30	369,21	393,82	409,12	390,71 a		
	Rerata	363,24	376,74	384,66			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0890					0,7466
PBB 0-8 Mg (g)	0	557,63	564,77	574,75	565,72 b	5,84	0,0069
	15	579,05	593,38	596,20	589,54ab		
	30	584,49	611,12	633,94	609,85 a		
	Rerata	573,72	589,76	601,63			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,1137					0,8358
PBB 0-10 Mg (g)	0	736,06bY	751,53cXY	768,02cX		5,41	0,0001
	15	772,75 a	790,62 b	794,34 b			
	30	779,06aZ	820,78 aY	851,99aX			
	SEM						
		<i>p-value</i>	0,0001				

Angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda pada kolom atau huruf kapital yang berbeda pada baris menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirat; Se=Seelenium *yeast*; SEM=Standard error of measurement

f Konsumsi dan konversi pakan

Pengaruh perlakuan kombinasi sodium butirat dengan selenium *yeast* terhadap konsumsi dan konversi pakan selama 10 minggu tersaji pada Tabel 21.

Semua kombinasi perlakuan tidak memberikan pengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap nilai konsumsi pakan selama 10 minggu, namun nyata berpengaruh ($P<0,05$) terhadap nilai konversi pakan. Hasil ini menegaskan bahwa kombinasi sodium butirat dengan selenium *yeast* sebagai bahan *in ovo feeding* menyebabkan penggunaan pakan lebih efisien. Artinya bahwa dengan konsumsi pakan yang hampir sama mampu menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik. Tentunya perkembangan vili sangat berperan dalam menghasilkan ternak yang mempunyai efisiensi pakan yang lebih baik.

Tabel 21 Konsumsi dan konversi pakan ayam KUB

Parameter	Level SB (mg)	Level SeY (ppm)			Rerata	SEM	P-value
		0	0,15	0,30			
Konsumsi Pakan							
Konsumsi 0-2 Mg (g)	0	173,98	173,07	169,99	172,35	1,34	0,7536
	15	169,66	171,94	170,76	170,78		
	30	167,08	171,21	171,23	169,84		
	Rerata	170,24	172,08	170,66			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,8486				0,9037	
Konsumsi 0-4 Mg (g)	0	487,96	484,38	495,38	489,24	5,62	0,5173
	15	499,86	499,79	496,89	498,85		
	30	495,09	501,56	514,37	503,68		
	Rerata	494,31	495,24	502,21			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,7940				0,9596	
Konsumsi 0-10 Mg (g)	0	2546,00	2545,40	2556,60	2549,33	9,71	0,4449
	15	2567,40	2543,00	2537,20	2549,20		
	30	2566,40	2564,60	2587,40	2572,80		
	Rerata	2559,93	2551,00	2560,40			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,8820				0,8895	
Konversi Pakan							
Konversi pakan 0-2 Mg (g)	0	3,31	3,25	3,17	3,24 c	0,03	0,0001
	15	3,15	3,01	2,99	3,05 b		
	30	3,09	2,89	2,93	2,97 a		
	Rerata	3,19 Y	3,05 X	3,03 X			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0001				0,1717	
Konversi pakan 0-4 Mg (g)	0	3,33	3,24	3,21	3,26 c	0,02	0,0001
	15	3,18	3,10	3,07	3,12 b		
	30	3,16	3,02	2,95	3,04 a		
	Rerata	3,22 Y	3,11 X	3,08 X			
	SEM						
	<i>p-value</i>	0,0001				0,3968	
Konversi pakan 0-10 Mg (g)	0	3,46 bY	3,39 bXY	3,33 cX		0,02	0,0001
	15	3,32 aY	3,22 aX	3,20 bX			
	30	3,29 aY	3,13 aX	3,04 aX			
	SEM						

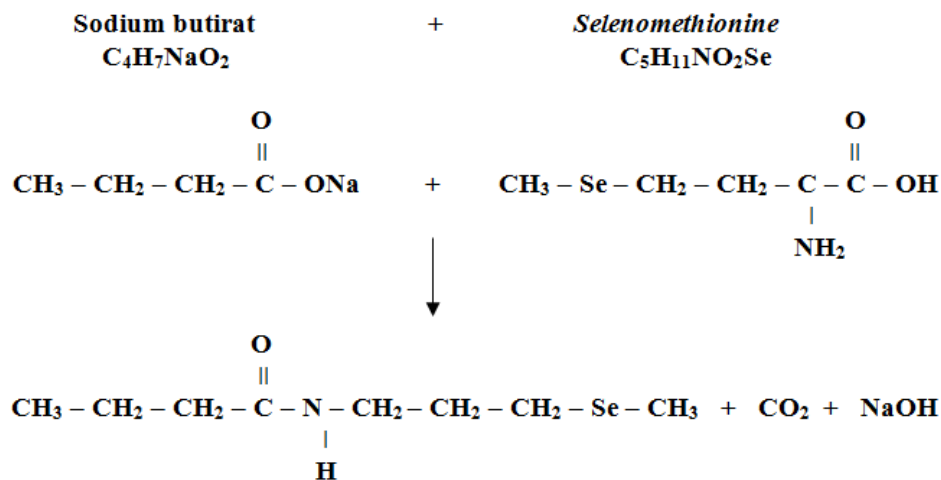
p-value

0,0001

0,0008

Angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda pada kolom atau huruf kapital yang berbeda pada baris menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). SB=Sodium butirat; Se=Seelenium yeast; SEM=Standard error of measurement

Data pada Tabel 21 menunjukkan adanya pengaruh interaksi yang nyata ($P < 0,05$) dari kedua bahan *in ovo feeding* terhadap konversi pakan selama 10 minggu pengamatan. Peningkatan penggunaan level sodium butirat terlihat lebih baik pada level penggunaan 0,30 ppm selenium yeast, sedangkan peningkatan level selenium yeast dari 0,15 ppm menjadi 0,30 ppm tidak nyata lebih baik pengaruhnya pada setiap level penggunaan sodium butirat. Terjadinya pengaruh interaksi kemungkinan besar ada kaitannya dengan proses fisiologis dari mekanisme sodium butirat yang memacu perkembangan dan metabolisme sel tinggi. Pada kondisi ini proses oksidasi menjadi meningkat dan rentan terbentuknya radikal bebas sehingga peranan selenium sangat diperlukan. Selain itu proses biokimia memungkinkan juga kedua bahan IOF tersebut memiliki efek sinergis sehingga mampu memberikan pengaruh interaksi terhadap performa ayam. Walaupun hal ini telah dijelaskan sebelumnya pada pembahasan luas permukaan vili bahwa besar kemungkinan tidak terjadi reaksi antara kedua bahan tersebut, melainkan kedua bahan tersebut bekerja dengan mekanismenya masing-masing, tetapi meskipun demikian kemungkinan adanya reaksi bisa saja terjadi seperti yang dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10 Dugaan reaksi kimia dari kombinasi sodium butirat (SB) dengan selenium yeast (SeY)

Terjadinya reaksi kimia dari kedua bahan yang tersaji pada Gambar 10 adalah merupakan gambaran secara teori karena pada kenyataannya banyak sekali faktor yang memengaruhinya seperti waktu reaksi, kesetimbangan molar reaktan, ada dan tidaknya katalisator, pH dan faktor lainnya. Untuk melihat senyawa kimia apa yang dihasilkan, produknya bisa diidentifikasi menggunakan HPLC, GC atau metode dan perangkat yang lainnya. Tentunya hal ini akan menarik untuk dikaji lebih lanjut.

Melihat hasil penelitian secara keseluruhan ternyata vili usus yang dibentuk melalui perlakuan *in ovo* akan berkembang terus sehingga ada indikasi bahwa

pengaruh *in ovo* tersebut bersifat permanen sehingga konversi pakan semakin baik. Pola nilai konversi pakan sama dengan pola pertumbuhan yaitu nilainya semakin efisien sejalan dengan meningkatnya level penggunaan sodium butirat dan selenium *yeast*. Faktor lingkungan seperti makanan yang diberikan tidak begitu berperan memengaruhi perbedaan terhadap efisiensi pakan. Oleh karena itu dapat menjadi rekomendasi bahwa pemberian kombinasi sodium butirat dengan selenium *yeast* lebih baik apabila dilakukan melalui teknik *in ovo feeding* mengingat ada indikasi pengaruhnya yang permanen.

5.5 Simpulan

Kombinasi sodium butirat (SB) dengan selenium *yeast* (SeY) secara *in ovo* memberikan pengaruh permanen bukan hanya pada awal tumbuh saja, tetapi berpengaruh terhadap periode tumbuh berikutnya. Perlakuan mengandung 30 mg sodium butirat dengan 0,3 ppm selenium *yeast* merupakan kombinasi terbaik yang dapat menghasilkan luas permukaan vili di jejunum dan ileum, serta tingkat efisiensi pakan dan pertumbuhan terbaik dari ayam lokal.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

6 PEMBAHASAN UMUM

Penelitian ini telah berhasil mendapatkan produk formula bahan *in ovo feeding* (IOF) terbaik menggunakan butirat dan selenium maupun kombinasi keduanya. Formula ini dapat diaplikasikan pada ayam lokal kampung unggul Balitbangtan (KUB) dan kemungkinan besar juga untuk ayam atau unggas lainnya. Selain produk formula bahan IOF, penelitian ini juga telah berhasil mengembangkan teknik injeksi IOF secara manual untuk karakteristik telur ayam lokal. Informasi ini juga sangat penting ke depannya untuk digunakan dalam pengembangan mesin injeksi IOF otomatis. Metode pengembangan teknik injeksi *in ovo feeding* (IOF) secara manual direkomendasikan menggunakan jarum dengan panjang 0,8 – 0,9 cm pada amnion saat umur telur 18 hari inkubasi. Perlakuan penutupan kerabang bekas injeksi IOF tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase daya tetas sehingga perlakuan tanpa penutup dinilai lebih efisien untuk menjadi pilihan. Pemanfaatan jarum (*syrinx*) yang ditumpulkan dapat diterapkan untuk melubangi bagian kerabang telur yang akan diinjeksi dibandingkan dengan menggunakan bor khusus yang dinilai tidak efektif. Jenis larutan yang sesuai untuk butirat dan selenium dalam formulasi bahan IOF adalah menggunakan *phosphate-buffered saline* (PBS) dengan volume injeksi sebesar 0,5 ml / telur. Pengujian *in ovo feeding* menggunakan butirat dan selenium tentunya memerlukan keseragaman materi penelitian agar respon yang ditunjukkan merupakan akibat dari pengaruh perlakuan saja. Materi telur ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB) yang berasal dari flock kandang dengan umur induk yang sama menghasilkan koefisien keragaman bobot telur dan bobot tetas serta luas permukaan vili yang rendah (persentase keseragaman yang tinggi).

Kajian atau studi literatur mengenai perkembangan teknologi *in ovo feeding* (IOF) menunjukkan bahwa IOF merupakan salah satu terobosan di bidang pakan yang besar dan kemungkinan akan terus menjadi isu ke depannya. Banyak manfaat yang diperoleh terutama dalam peningkatan produktivitas ternak unggas. Bahan yang digunakan sebagai nutrisi IOF sangat beragam tergantung orientasi kepada fungsinya bahan tersebut. Pengujiannya pun terus berkembang bukan hanya pada ayam saja, melainkan unggas lainnya. Sejak dikembangkan pertama kalinya oleh Uni dan Ferket (2003), teknik *in ovo feeding* mengalami perkembangan metode atau prosedur teknik injeksi yang meliputi waktu dan lokasi injeksi, spesifikasi jarum, perlakuan melubangi dan menutup telur setelah diinjeksi, volume injeksi dan jenis larutan yang digunakan. Hasil *overview* terhadap pemanfaatan asam butirat dan selenium secara *in ovo* pada prinsipnya memperlihatkan bahwa mekanisme asam butirat dapat mengoptimalkan perkembangan dan fungsi usus (vili), sedangkan selenium berperan penting dalam berbagai selenoprotein di antaranya adalah *glutathione peroxidase* (GSH-Px) yang terlibat dalam perlindungan antioksidan seluler dan berperan mendetoksi hidroperoksida akibat radikal bebas.

Pada pengujian beberapa jenis butirat dan selenium secara terpisah (tunggal) melalui teknik *in ovo* memperlihatkan bahwa butirat dan selenium secara nyata memiliki kecenderungan yang sama memengaruhi luas permukaan vili, titer antibodi, persentase limfosit dan heterofil, penambahan bobot badan harian dan konversi pakan, kecuali selenium anorganik yang masih belum optimal

pengaruhnya terhadap titer antibodi serta total dan diferensiasi leukosit. Asam butirat murni efektif untuk perkembangan vili di usus halus bagian depan, sedangkan sodium butirat efektif di tengah dan ujung bagian usus halus. Semua jenis selenium terbukti meningkatkan aktivitas enzim glutathione peroksidase (GSH-Px). Disimpulkan bahwa sodium butirat dan selenium *yeast* (organik) menjadi bahan nutrisi *in ovo feeding* terpilih untuk dikombinasikan pada tahap penelitian berikutnya.

Pemberian kombinasi sodium butirat (SB) dan selenium *yeast* (SeY) secara *in ovo feeding* terhadap produktivitas ayam lokal menunjukkan bahwa terdapat indikasi kombinasi SB dengan SeY secara *in ovo* memberikan pengaruh permanen bukan hanya pada awal tumbuh saja, melainkan berpengaruh juga pada fase pertumbuhan berikutnya. Perlakuan mengandung 30 mg SB dengan 0,3 ppm SeY merupakan kombinasi yang menghasilkan luas permukaan vili di jejunum dan ileum, serta tingkat efisiensi pakan dan pertumbuhan terbaik dari ayam KUB. Menariknya pada penelitian ini yaitu adanya asumsi bahwa besar kemungkinan asam butirat (sodium butirat) dan selenium *yeast* bekerja dengan mekanismenya masing-masing. Artinya tidak terjadi reaksi dari keduanya untuk membentuk senyawa baru yang mempunyai spesifik fungsi. Adapun efek sinergis dari keduanya lebih kepada optimalisasi fungsi kedua bahan tersebut dalam memperbaiki dan mendukung perkembangan vili dan variabel imunitas sehingga memberikan performa pertumbuhan dengan baik. Namun walaupun demikian secara teori akan muncul asumsi lain yang cenderung mendukung pemahaman terhadap kemungkinan terjadinya reaksi kedua bahan tersebut sehingga membentuk senyawa baru yang mempunyai efek sinergis. Tentunya hal ini akan menarik untuk dikaji lebih lanjut karena pada kenyataannya banyak sekali faktor yang memengaruhinya terjadinya sebuah reaksi yaitu seperti waktu reaksi, kesetimbangan molar reaktan, ada dan tidaknya katalisator, pH dan faktor lainnya.

Teknologi *in ovo feeding* (IOF) menjadi penting saat ini dan ke depannya mengingat perkembangan industri peternakan khususnya ayam akan dihadapkan dengan berbagai tantangan teknis. Upaya perbaikan genetik ayam berimplikasi terhadap tingkat metabolisme embrio yang tumbuh cepat sehingga menyebabkan cadangan nutrisi embrio mungkin terbatas atau tidak mencukupi dan bahkan beberapa nutrisi habis pada masa *prenatal*. Perkembangan jaringan yang tinggi di awal pertumbuhan ini memungkinkan terjadinya oksidasi dan stres yang dapat meningkatkan jumlah radikal bebas, apalagi kondisi di daerah tropis yang dihadapkan pada *heat index* yang terus meningkat dan dapat memicu stres yang tinggi. Kondisi seperti inilah akan mengganggu perkembangan ternak di awal-awal tumbuh. Apalagi anak ayam biasanya berpuasa untuk 36 – 72 jam pertama setelah menetas karena logistik (pengiriman) dalam pemasaran yang berpeluang menyebabkan penurunan kualitas ternak. Di sisi lain, ada indikasi ketergantungan peternak terhadap produk antibiotik sehingga ada kekhawatiran yang cukup besar ketika pembatasan penggunaan beberapa produk antibiotik terjadi saat ini dan tentunya hal ini memerlukan upaya mencari produk penggantinya. Teknologi *in ovo feeding* menggunakan butirat dan selenium atau kombinasi keduanya akan menjawab semua tantangan teknis tersebut.

Hasil penelitian ini tentunya akan membawa implikasi besar terhadap sektor peternakan terutama budidaya ayam atau unggas lainnya. Penelitian awal pada ayam lokal akan menjadi model yang bisa diduplikasi untuk diterapkan pada ayam

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

atau jenis unggas lainnya. Aplikasi pada ayam broiler atau ayam ras seharusnya menghasilkan efektivitas yang lebih baik mengingat jenis ayam ini mempunyai respon yang tinggi dalam mengonversi nutrien pakan. Oleh karena itu pengembangan formula *in ovo feeding* (IOF) ini tentunya harus bersinergis dengan alat atau mesin injeksi otomatis yang berskala industri sehingga orientasi pengembangan ke depan akan dimanfaatkan oleh *hatchery* dari sektor pembibitan (*breeder*) untuk menghasilkan DOC (*day old chick*) dengan spesifikasi keunggulan tertentu, sedangkan peternak sebagai pembudidaya akan diuntungkan dengan tersedianya DOC yang sudah diperkaya nutrien.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University





7 SIMPULAN UMUM DAN SARAN

7.1 Simpulan Umum

Terdapat beberapa poin penting dari seluruh rangkaian penelitian yang telah dilakukan untuk menjadi simpulan umum yaitu:

- Metode pengembangan teknik injeksi *in ovo feeding* (IOF) secara manual pada telur ayam lokal direkomendasikan menggunakan jarum dengan panjang 0,8 – 0,9 cm pada amnion saat umur telur 18 hari inkubasi. Jarum (*syrinx*) yang ditumpulkan dapat diterapkan untuk melubangi bagian kerabang telur yang akan diinjeksi dan tidak diperlukan penutupan terhadap lubang bekas injeksi.
- Jenis larutan yang sesuai untuk butirat dan selenium dalam formulasi bahan IOF adalah menggunakan *phosphate-buffered saline* (PBS) dengan volume injeksi sebesar 0,5 ml / telur.
- Materi telur ayam kampung unggul Balitbangtan (KUB) yang berasal dari flock kandang dengan umur induk yang sama menghasilkan koefisien keragaman bobot telur dan bobot tetas serta luas permukaan vili yang rendah (persentase keseragaman yang tinggi).
- Hasil *screening* dari beberapa jenis butirat dan selenium yang tersedia dipasaran merekomendasikan sodium butirat dan selenium *yeast* (organik) menjadi bahan nutrisi *in ovo feeding* terpilih untuk dikombinasikan .
- Efek sinergis penggunaan formulasi butirat dengan selenium secara *in ovo* dalam meningkatkan produktivitas ayam merupakan optimalisasi fungsi kedua bahan tersebut dengan mekanisme masing-masing, sedangkan pengaruhnya bersifat permanen bukan hanya pada awal tumbuh saja, melainkan berpengaruh terhadap periode tumbuh berikutnya.
- Perlakuan yang mengandung 30 mg sodium butirat dengan 0,3 ppm selenium *yeast* merupakan kombinasi terbaik yang menghasilkan kesehatan atau perkembangan vili (luas permukaan vili) di jejunum dan ileum, serta tingkat efisiensi pakan dan pertumbuhan terbaik dari ayam lokal.

7.2 Saran

Produk formula bahan *in ovo feeding* (IOF) terbaik menggunakan butirat dan selenium maupun kombinasi keduanya disarankan untuk diuji lebih mendalam pada parameter lainnya seperti pengaruh ekspresi gen imunitas dan pertumbuhan. Selain itu, produk formula bahan *in ovo feeding* (IOF) terbaik juga hendaknya diuji pada jenis unggas lainnya baik melalui teknik injeksi manual maupun menggunakan mesin injeksi otomatis. Oleh karena itu disarankan juga ada perakitan formulasi bahan IOF yang terintegrasi dengan alat atau mesin injeksi otomatis, mengingat salah satu dari tahapan penelitian disertasi ini sudah menjadi input dasar dalam pengembangan mesin injeksi IOF otomatis.

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas DA, Hasan TK, Taha AT. 2020. Effect of in ovo - injection with Nano-Selenium on hatchability and post-hatch biological parameters in quail. The 1st *Scientific International Virtual Agricultural Conference*. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 553: 012032. doi:10.1088/1755-1315/553/1/012032.
- Abdelqader A, Al-Fataftah AR. 2016. Effect of dietary butyric acid on performance, intestinal morphology, microflora composition and intestinal recovery of heat-stressed broilers. *Livest Sci*. 183: 78–83.
- Adams CA. 2004. Nutricines in poultry production: focus on bioactive feed ingredients. *Nutr Abstr Rev*. (B) 74:1N-12N.
- Adil S, Banday T, Bhat GA, Salahuddin M, Raquib M, Shanaz S. 2011. Response of broiler chicken to dietary supplementation of organic acids. *J Central European Agric*. 12: 498–508.
- Adil S, Banday T, Bhat GA, Mir MS, Rehman M. 2010. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Vet Med Int*: 479485. Doi: 10.4061/2010/479485.
- Aiyer-Harini P, Ashok-Kumar HG, Kumar GP, Shivakumar N. 2013. An overview of immunologic adjuvants. A Review. *J Vaccines Vaccin*. 4(1):1-4.
- Aljamal A. 2011. The Effect of Vitamin E, Selenomethionine And Sodium Selenite Supplementation In Laying Hens. [Disertasi]. Lincoln: University Of Nebraska.
- Allen HK, Levine UY, Looft T, Bandrick M, Casey TA. 2013. Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends Microbiol*. 21: 114–119.
- Al-Murrani W. 1982. Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. *Br Poult Sci*. 23:171–4. doi:10.1080/00071688208447943.
- Apsite, M, Pitrans B, Atlavin A. 1993. The role of duodenum in selenium assimilation in chick organism. Proceedings of the Eighth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals. *TEMA*. 8:392-393.
- Bahnas MMS. 2018. Effect of in-ovo nano-selenium injection on productive performance and immunity of improved baladi chicken. [Disertasi]. Fayoum: Fayoum University.
- Banday MT, Adil S, Khan AA, Untoo M. 2015. A study of efficacy of fumaric acid supplementation in diet of broiler chicken. *Int J Poult Sci*. 14: 589–594.
- Bedford A, Gong J. 2018. Implications of butyrate and its derivatives for gut health and animal production. *Anim Nutr*. 4: 151–159.
- Beilstein MA, Whanger PD. 1992. Selenium metabolism and glutathione peroxidase activity in cultured human lymphoblasts: Effects of transsulfuration defects and pyridoxal phosphate. *Biol. Trace Elem. Res*. 35:105-118.
- Benjamin MM. 1980. *Outline of Veterinary Clinical Pathology*. Iowa: The Iowa State University.

- Bhanja SK, Sudhagar M, Pandey N, Goel A, Mehra M, Majumdar S, Agarwal SK. 2010. Modulation of immunity genes through in ovo supplemented amino acids in broiler chickens. *Proc XIIIth Euro Poultry Conf.* 161-123.
- Biggs P, Parsons CM. 2008. The effects of several organic acids on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poult Sci.* 87: 2581–2589.
- Bohorquez D, Santos AJr, Ferket PR. 2007. In ovo-fed lactose augments small intestinal surface and body weight of 3 day-old turkey poults. *Poult Sci.* 86: 214-215.
- Borges SA, Fischer DSAV, Majorca A, Hooge DMA, Cummings KR. 2004. Physiological responses of broiler chicken to heat stress and dietary electroly balance (Sodium plus potassium minus chloride, milliequivalents per kilogram). *J Poult Sci.* 83:1551-1558.
- Boroogeni F, Vahjen W, Mader A, Knorr F, Ruhnke I, Röhe I, Hafeez A, Villodre C, Männer K, Zentek J. 2014. The effects of different thermal treatments and organic acid levels in feed on microbial composition and activity in gastrointestinal tract of broilers. *Poult Sci.* 93: 1440–1452.
- Bottje W, Wolfenden A, Ding L, Wolfenden R, Morgan M, Pumford N, Lassiter K, Duncan G, Smith T, Slagle T, Hargis B. 2010. Improved hatchability and post hatch performance in turkey poults receiving a dextrin-iodinated casein solution in ovo. *Poult Sci.* 89:2646-2650.
- Brändle J, Domig KJ, Kneifel W. 2016. Relevance and analysis of butyric acid producing clostridia in milk and cheese. *Food Control.* 67: 96–113.
- Carvalho KM, Gallardo-Williams MT, Benson RF, Martin DF. 2003. Effects of selenium supplementation on four agricultural crops. *J Agric Food Chem.* 51:704-709.
- Chandiranathan T, Pasupathi, Karu1, Valli C, Omprakash AV. 2017. Effect of in ovo supplementation of amino acids and nanoselenium on small intestine histomorphometry. *Indian Vet J.* 94 (11) : 59 – 61.
- Chen W, Wang R, Xiong XL, Wan HF, Xu J, Peng J. 2010. Influence of in ovo injection of disaccharides, glutamine and β -hydroxy- β -methylbutyrate on the development of small intestine in duck embryos and neonates. *Brit Poult Sci.* 51: 592-601.
- Chen W, Wang R, Wan HF, Xiong XL, Peng P, Peng J. 2009. Influence of in ovo injection of glutamine and carbohydrates on digestive organs and pectoralis muscle mass in the duck. *Brit Poult Sci.* 50: 436-442.
- Cozzi G, Prevedello P, Stefani AL, Piron A, Contiero B, Lante A, Gottardo F, Chevaux E. 2011. Effect of dietary supplementation with different sources of selenium on growth response, selenium blood levels and meat quality of intensively finished Charolais young bulls. *Animal.* 5: 1531–1538.
- Deniz G, Gezen SS, Turkmen II. 2005. Effects of two supplemental dietary selenium sources (mineral and organic) on broiler performance and drip-loss. *Revue Méd Vét.* 156(8-9): 423-426.
- [Ditjen PKH] Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2020. Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan. <https://ditjenpkh.pertanian.go.id>.
- Dong XY, Jiang YJ, Wang MQ, Wang YM, Zou XT. 2013. Effects of in ovo feeding of carbohydrates on hatchability, body weight, and energy status in domestic pigeons. *Poult Sci.* 92: 2118–2123.

- Dwidar M, Park, JY, Mitchell RJ, Sang BI. 2012. The future of butyric acid in industry. *Sci. World J.* 471417. doi: 10.1100/2012/471417.
- El-Deef MH, Amber KA, Elgendy S, Dawood MAO, Zindan A. 2020. In ovo injection of nano-selenium spheres mitigates the hatchability, histopathology image and immune response of hatched chicks. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 0:1–9. doi: 10.1111/jpn.13379.
- El-Fatah MMA. 2018. Influence of in ovo injection of selenium nanoparticles and selenomethionine on growth, development of embryos, physiological and immune response of chickens. [Disertasi]. Cairo: Ain Shams University.
- [EFSA] European Food and Safety Authority. 2012. Scientific Opinion on safety and efficacy of selenium in the form of organic compounds produced by the selenium-enriched yeast *Saccharomyces cerevisiae* NCYC R646 (Selemax 1000/2000) as feed additive for all species. *EFSA J.* 10 (7), 2778.
- [EFSA] European Food and Safety Authority. 2008. Selenium-enriched yeast as source for selenium added for nutritional purposes in foods for particular nutritional uses and foods (including food supplements) for the general population—Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food. *EFSA J.* 766: 1–42.
- [FDA] US Food and Drug Administration. 1974. Title 21, Code of Federal Regulations. Part 573.920.
- [Federal Register]. 2000. Food additive permitted in feed and drinking water: Selenium yeast. Fed. Reg. 67 (Suppl. 137): 46850-46851.
- Fitzsimmons RC, Phalaraksh K. 1978. Chick embryonic development as influenced by in ovo injected selenium. *Can J Anim Sci.* 58:227-232.
- Foster LH, Sumar S. 1997. Selenium in health and disease: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 37(Suppl. 3):211-228.
- Foster SJ, Kraus RJ, Ganther HE. 1986. Formation of dimethyl selenide and trimethylselenonium from selenobetaine in the rat. *Arch Biochem Biophys.* 247:12-19.
- Foye OT, Uni Z, McMurtry JP, Ferket PR. 2006. The effects of amniotic nutrients administration, in ovo feeding of arginine and/or β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) on insulin-like growth factors, energy metabolism and growth in turkey poults. *Int J Poult Sci.* 5: 309-317.
- Foye OT, Uni Z, Ferket PR. 2006. Effect of *in ovo* feeding egg white protein, beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. *Poult Sci.* 85: 1185-1192.
- Francesconi KA, Pannier F. 2004. Selenium Metabolites in Urine: A critical overview of past work and current status. *Clin Chem.* 50(Suppl. 12): 2240-2253.
- Gadde U, Kim WH, Oh ST, Lillehoj HS. 2017. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Anim. Health Res Rev.* p1-20. doi:10.1017/ S1466252316000207.
- Goel A, Bhanja SK, Mehra M, Mandal A, Pande V. 2016. *In ovo* trace element supplementation enhances expression of growth genes in embryo and immune genes in post-hatch broiler chickens. *J Sci Food Agr.* 96: 2737–2745.
- Gomez KA, Gomez AA. 1995. *Prosedur Statistika untuk Penelitian Pertanian. Edisi Kedua.* Sjamsuddin E, Bahrsjah JS, perjemah. Jakarta: UI Pr.

- Hajati H, Hassanabadi A, Golian A, Moghaddam HN, Nassiri MR. 2014. The effect of In Ovo injection of grape seed extract and vitamin C on hatchability, antioxidant activity, yolk sac absorption, performance and ileal micro flora of broiler chickens. *Res Opin Anim Vet Sci*. 4: 633-638.
- Halverson AW, Jerde LG, Hill CL. 1965. Toxicity of Inorganic selenium salt to chick embryos. *Tox Appl Pharma*. 7: 675-679.
- Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Brummer R J. 2008. Review: Role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharma col Ther*. 27:104-119.
- Hanafiah HA. 1991. *Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi Cetakan Ke 5*. Jakarta Utara : PT. Raja Grafindo Persada.
- Haque MN, Islam KM, Akbar MA, Chowdhury R, Khatun M, Karim MR, Kemppainen BW. 2010. Effect of dietary citric acid, flavomycin and their combination on the performance, tibia ash and immune status of broiler. *Can J Anim Sci*. 90: 57-63.
- Hassan AM. 2018. Effect of in ovo injection with nano-selenium or nano-zinc on post-hatch growth performance and physiological traits of broiler chicks. *IJEAB*. 3(2):350-357.
- Hassan A, Ahn J, Suh Y, Choi YM, Chen P, Lee K. 2014. Selenium promotes adipogenic determination and differentiation of chicken embryonic fibroblasts with regulation of genes involved in fatty acid uptake, triacylglycerol synthesis and lipolysis. *J Nutr Biochem*. 25(8): 858-867.
- Havenstein G, Ferket P, Qureshi M. 2003. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult Sci*. 82:1500-8.
- Heinz GH, Hoffman DJ, Klimstra JD, Stebbins KR. 2012. A Comparison of the Teratogenicity of Methylmercury and Selenomethionine Injected Into Bird Eggs. *Arch Environ Contam Toxicol*. 62:519-528. doi:10.1007/s00244-011-9717-4.
- Hernandez F, Garcia V, Madrid J, Orengo J, Catalá P, Megias MD. 2006. Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. *Brit Poult Sci*. 47: 50-56.
- Huyghebaert G, Ducatelle R, Immerseel FV. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Vet J*. 187: 182-188.
- Ibrahim NS, Sabic EM, Wakwak MM, El-Wardany IE, El-Homosany YM, El-Deen MN. 2020. In-ovo and dietary supplementation of selenium nanoparticles influence physiological responses, immunological status and performance of broiler chicks. *J Anim Feed Sci*. 29: 46-58.
- Ibrahim S. 2008. Hubungan ukuran-ukuran usus halus dengan berat badan broiler. *Agripet*. 8:42-46.
- Iji PA, Hughes RJ, Choct M, Tivey DR. 2001. Intestinal structure and function of broiler chickens on wheat-based diets supplemented with a microbial enzyme. *Asian-Australian J Anim Sci*. 14: 54-60.
- Inagaki A, Sakatha T. 2005. Dose-dependent stimulatory and inhibitory effects of luminal and serosal n-butyric acid on epithelial cell proliferation of pig distal colonic mucosa. *J Nutr Sci Vitaminol*. 51: 156-160.

- Jia CL, Wei ZH, Yu M, Wang XQ, Yu F. 2011. Effect of *in-ovo* feeding maltose on the embryo growth and intestine development of broiler chicken. *Indian J Anim Sci.* 81: 503-506.
- Kadam MM, Barekain MR, Bhanja SK, Iji PA. 2013. Prospects of *in ovo* feeding and nutrient supplementation for poultry: the science and commercial applications-a review. *J Sci Food Agric.* 93:3654-3661.
- Keralapurath MM, Keirs RW, Corzo A, Benneth LW, Pulikanti R, Peebles ED. 2010. Effects of *in ovo* injection of L-carnitine on subsequent broiler chick tissue nutrient profiles. *Poult Sci.* 89: 335-341.
- Khajali F, Raei A, Aghaei A, Qujeq D. 2010. Evaluation of a dietary organic selenium supplement at different dietary protein concentrations on growth performance, body composition and antioxidative status of broilers reared under heat stress. *Asian-Aust J Anim Sci.* 23(4) : 501 – 507.
- Kinoshita M, Suzuki Y, Saito Y. 2002. Butyrate reduces colonic paracellular permeability by enhancing PPAR γ activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 293: 827–831.
- Kohrle J, Brigelius-Flohe R, Bock A, Gartner R, Meyer O, Flohe L. 2000. Selenium in biology: facts and medical perspectives. *Biol Chem.* 381:849-864.
- Kotan E, Alpsoy L, Anar M, Aslan A, Agar G. 2011. Protective role of methanol extract of *Cetraria islandica* (L.) against oxidative stress and genotoxic effects of aflatoxin B₁ in human lymphocytes in vitro. *Toxicol Ind Health.* 27(7): 599 – 605.
- Laganá C, Ribeiro AML, Kessler AM, Kratz LR, Pinheiro CC. 2007. Effect of the supplementation of vitamins and organic minerals on the performance of broilers under heat stress. *Br Poult Sci.* 9(1): 39 – 43.
- Latshaw JD, Ort JF, Diesem CD. 1977. The selenium requirements of the hen and effects of a deficiency. *Poult Sci.* 56:1876-1881.
- Lee SH, Lillehoj HS, Jang SI, Jeong MS, Xu SZ, Kim JB, Park HJ, Kim HR, Lillehoj EP, Bravo DM. 2014. Effects of *in ovo* injection with selenium on immune and antioxidant responses during experimental necrotic enteritis in broiler chickens. *Poult Sci.*, 93 :1113–1121.
- Leeson S, Namkung H, Caston H, Durosoy S, Schlegel P. 2008. Comparison of selenium levels and sources and dietary fat quality in diets for broiler breeders and layer hens. *Poult Sci.* 87: 2605–2612. doi:10.3382/ps.2008-00174.
- Leeson S, Summers JD. 2001. *Nutrition of the Chickens.* 4th Ed. Canada (US): University Books.
- Liu Y, Tang Q, Zhang J, Xia Y, Yang Y, Wu D, Cui SW. 2017. Triple helix conformation of β -D-glucan from *Ganoderma lucidum* and effect of molecular weight on its immunological activity. *Int J Biol Macromol.* 114: 1064-1070.
- Long SF, Xu YT, Pan L, Wang QQ, Wang CL, Wu JY, Han YM, Yun CH, Piao XS. 2018. Mixed organic acids as antibiotic substitutes improve performance, serum immunity, intestinal morphology and microbiota for weaned piglets. *Anim Feed Sci Tech.* 235: 23–32.
- Macalintal LM. 2012. *In Ovo* Selenium (Se) Injection Of Incubating Chicken Eggs: Effects On Embryo Viability, Tissue Se Concentration, Lipid



Peroxidation, Immune Response And Post Hatch Development. [Disertasi]. Kentucky: University of Kentucky.

- Mansoub NH, Rahimpour K, Majedi asl L, Nezhady MAM, Zabihi SL, Kalhori MM. 2011. Effect of different level of butyric acid glycerides on performance and serum composition of broiler chickens. *J World Zoology*. 6: 179–182.
- Mavromichalis I. 2017. 6 Poultry nutrition, health trend shaping the future. *Poultry International*. [diakses 2007 Agus 20]. <http://www.ATTAgNet.com>.
- McReynolds J, Caldwell D, Barnhart E, Deloach J, McElroy A, Moore R, Hargis B, Caldwell D. 2000. The effect of in ovo or day-of-hatch subcutaneous antibiotic administration on competitive exclusion culture (PREEMPT) establishment in neonatal chickens. *Poult Sci*. 79:1524-1530.
- Meimandipour A, Shuhaimi M, Soleimani AF, Azhar K, Hair-Bejo M, Kabeir BM, Javanmard A, Anas OM, Yazid AM. 2010. Selected microbial groups and short chain fatty acids profile in a simulated chicken cecum supplemented with two strains of *Lactobacillus*. *Poult Sci*. 89: 470–476.
- Mohammad, El-wardany NG, El-homosany IE, Wakwak YMMM, Sabic, Ibrahim NS. 2019. In-ovo inoculation of selenium nanoparticles improves Productive performance, blood biochemical profile, Antioxidant status and immune response of hatched chicks. Special Issue. *AUJASCI*. 27(1): 887-897.
- Montagne L, Piel C, Lalles JP. 2004. Effect of diet on mucin genetics and composition: Nutrition and health implications. *Nutr Rev*. 62:105–114.
- Namkung H, Yu H, Gong J, Leeson S. 2011. Antimicrobial activity of butyrate glycerides toward *Salmonella typhimurium* and *Clostridium perfringens*. *Poult Sci*. 90: 2217–2222.
- Natsir MH. 2008. Pengaruh penggunaan beberapa jenis enkapsulan pada asam laktat terenkapsulasi sebagai acidifier terhadap daya cerna protein dan energi metabolis ayam pedaging. *J Ternak Tropika*. 6:13-17.
- Nowaczewski S, Kontecka H, Krystianiak S. 2010. Effect of in ovo injection of vitamin C during incubation on hatchability of chickens and ducks. *Folia Biol (Kraków)*. 60, 93–97.
- [NRC] National Research Council. 1994. *Ninth revised edition*. Washington DC: National Academy Press.
- Ohta Y, Kidd MT, Ishibashi T. 2001. Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler breeder eggs, embryos, and chicks after in ovo administration of amino acids. *Poult Sci*. 80:143014–36. doi:10.1093/ps/80.10.1430.
- Ohta Y, Tsushima N, Koide K, Kidd MT, Ishibashi T. 1999. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. *Poult Sci*. 78:1493–8. doi:10.1093/ps/78.11.1493.
- Panda AK, Rao SVR, Mvln R, Sunder GS. 2009. Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian-Australasian J Anim Sci*. 22: 1026–1031.
- Parten KH, Mroz Z. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nut Res Rev*. 12:117-145.
- Payne RL, Southern LL. 2005. Comparison of inorganic and organic selenium sources for broilers. *Poult Sci*. 84: 898-902.

- Pesti GM, Combs GFJ. 1976. Studies on the enteric absorption of selenium in the chick using localized coccidial infections. *Poult Sci.* 55:2265-2274.
- Pelizon AC, Kaneno R, Soares AMVC, Meira DA, Sartori A. 2005. Immunomodulatory activities associated with β -Glucan derived from *Saccharomyces cerevisiae*. *Physiol Res.* 54: 557-564.
- Pineda L, Sawosz E, Lauridsen C, Engberg RM, Elnif J, Hotowy A, Chwalibog A. 2012. Influence of in ovo injection and subsequent provision of silver nanoparticles on growth performance, microbial profile, and immune status of broiler chickens. *Anim Physiol.* 4.
- Rebolé A, Ortiz LT, Rodriguez ML, Alzueta C, Trevino J, Velasco S. 2010. Effects of inulin and enzyme complex, individually or in combination, on growth performance, intestinal microflora, cecal fermentation characteristics, and jejunal histomorphology in broiler chickens fed wheat and barley based diet. *Poult Sci.* 89: 276–286.
- Ricke SC. 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poult Sci.* 82: 632–639.
- Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG. 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Sci.* 179 (4073):588-590. doi: 10.1126/science.179.4073.588.
- Salahi A, Adabi SG, Khabisi MM, Anissian A, Cooper RG. 2015. Effect of In ovo administration of butyric acid into broiler breeder eggs on chicken small intestine pH and morphology. *Slovak J Anim Sci.* 48 (1): 8-15.
- Salahi A, Mousavi SN, Foroudi F, Khabisi MM, Norozi M. 2011. Effects of in ovo injection of butyric acid in broiler breeder eggs on hatching parameters, chick quality and performance. *Glob Vet.* 7: 468-477.
- Salary J, Ala FS, Kalantar M, Matin HRH. 2014. In ovo injection of vitamin E on post-hatch immunological parameters and broiler chicken performance. *Asian Pac J Trop Biomed.* 4: S616-S619.
- Salgado TL, García JCDR, Román JLA, Martínez EM, Albores AM. 2011. Effect of citric acid supplemented diets on aflatoxin degradation, growth performance and serum parameters in broiler chickens. *Arch de Med Veterinaria.* 43: 215–222.
- Salmanzadeh M, Shahryar HA, Lotfi. 2015. Effect of *in ovo* Feeding of Butyric Acid on Hatchability, Performance and Small Intestinal Morphology of Turkey Poults. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 21 (1): 19-25.
- Salmanzadeh M. 2011. The effects of in-ovo injection of glucose on hatchability, hatching weight and subsequent performance of newly-hatched chicks, *Braz J Poult Sci.* 14: 137–140.
- Samanta S, Haldar S, Ghosh TK. 2008. Production and carcass traits in broiler chickens given diets supplemented with inorganic trivalent chromium and an organic acid blend. *Brit Poult Sci.* 49: 155–163.
- Samanta S, Haldar S, Ghosh TK. 2010. Comparative efficacy of an organic acid blend and bacitracin methylene disalicylate as growth promoters in broiler chickens: effects on performance, gut histology, and small intestinal milieu. *Vet Med Inter.* 16: 645150. Doi: 10.4061/2010/645150.
- Schrauzer GN. 2006. Selenium yeast: Composition, quality, analysis, and safety. *Pure Appl Chem.* 78(1): 105–109.

- Schrauzer GN. 2000. Selenomehtionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *J Nutri*. 130:1653-1656.
- Schwarz K, Foltz CM. 1957. Selenium as an integral part of factor-3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Amer Chem Soc*. 79:3292.
- [SCI] Sehat Cerah Indonesia. 2017. Klasifikasi obat hewan dan pembatasan AGP: Sodium butyrate generasi baru. *Infovet* (Edisi sisipan). 3: 8-9.
- Sharma JM, Burmester BR. 1982. Resistance to Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus. *Avian Dis*. 26:134-149.
- Shokraneh M, Sadeghi AA, Mousavi SN, Esmaeilkhanian S, Chamani M. 2020. Effects of *in ovo* injection of nano-selenium and nano-zinc oxide and high eggshell temperature during late incubation on antioxidant activity, thyroid and glucocorticoid hormones and some blood metabolites in broiler hatchlings. *Acta Scientiarum Anim Sci*. 42: e46029.
- Siegel HS .1995. Stress, strain and resistance. *Brit Poult Sci*. 36: 3-22.
- Siregar AGA. 1988. *Penuntun Praktikum Virologi dan Serologi*. Bogor: Pusat Antar Universitas Insitut Pertanian Bogor.
- Smirnov A, Tako E, Ferket P, Uni Z. 2006. Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells is affected by *in ovo* feeding of carbohydrates. *Poult. Sci*. 85:669-673.
- Soares R. 2008. Passive immunity: part 1. Hatchery Expertise Online. [diakses 2016 Juni 30]; 1(18):1. Tersedia pada: <http://www.thepoulttrysite.com/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob208/Article-No18-May08.pdf>.
- Sogunle OM, Elangovan AV, David CG, Ghosh J, Awachat VB. 2018. Response of broiler chicken to *in ovo* administration of inorganic salts of zinc, selenium and copper or their combination. *Slovak J Anim Sci*. 51(1): 8–19.
- Sugiharto S. 2014. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *J Saudi Soc Agric Sci*. p113.
- Sunde RA, Thompson BM, Palm MD, Weiss SL, Thompson KM, Evenson JK. 1997. Selenium regulation of selenium-dependent glutathione peroxidases in animals and transfected cho cells. *Biomed Environ Sci*. 10:346-355.
- Surai PF, Fisinin VI, Karadas F. 2016. Antioxidant systems in chick embryo development. Part 1. vitamin e, carotenoids and selenium. *Anim Nutr J*. 2(1) 1-11.
- Surai PF, Fisinin VI. 2014. Selenium in poultry breeder nutrition. An update. *Anim Feed Sci Techno*. 191: 1-15.
- Surai PF. 2006. *Selenium in Nutrition and Health*. Nottingham UK: Nottingham University Press.
- Surai PF, Karadas F, Pappas AC, Sparks NHC. 2006. Effect of organic selenium in quail diet on its accumulation in tissues and transfer to the progeny. *Br Poult Sci*. 47: 65-72.
- Surai PF. 2003. *Natural antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction*. England (GB): Nottingham Univ Press.
- Surai PF. 2002. Selenium in poultry nutrition: a new look at an old element. 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. *World Poult Sci J*. 58: 333-47.

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

IPB University

- Surai PF. 2002. Selenium in poultry nutrition: a new look at an old element. 2. Reproduction, egg and meat quality and practical applications. *World Poult Sci J.* 58: 431-50.
- Surai PF. 2000. Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. *Br Poult Sci.* 41:235-243.
- Tako E, Ferket PR, Uni Z. 2004. Effects of *in ovo feeding* of carbohydrates and beta-hydroxy-betamethyl butyrate on the development of chicken intestine. *Poult Sci.* 83: 2023-2028.
- [CFNI] The Carribean Food and Nutrition Institute. 2005. *Selenium, Nutrition and Health*. Pan American Health Organization.
- Turner RJ, Weiner JH, Taylor DE. 1998. Selenium metabolism in *Escherichia coli*. *Biometals.* 11:223-227.
- Uni Z, Smith RH. 2017. The effects of in-ovo feeding. Presented at the Arkansas Nutrition Conference, Rogers Arkansas, USA. [diakses 2017 September 6]. <https://zootecnicainternational.com/featured/effects-ovo-feeding>.
- Uni Z, Ferket PR, Tako E, Kedar O. 2005. In ovo feeding improves energy status of late – term chicken embryos. *Poult Sci.* 84: 764 – 770.
- Uni Z, Ferket PR. 2004. Methods for early nutrition and their potential. *World J Poult Sci.* 60:101-111.
- Uni Z, Tako E, Gal-Garber O, Sklan D. 2003. Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poult Sci.* 82: 1747-1754.
- Uni Z, Ferket PR. 2003. Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding. US Regular Patent US 6:B2.
- Ursini F. 2000. The world of glutathione peroxidases. *J Trace Elem Med Biol.* 14:116.
- Urso UR, Dahlke F, Maiorka A, Bueno IJ, Schneider AF, Surek D. 2015. Vitamin E and selenium in broiler breeder diets: Effect on live performance, hatching process, and chick quality. *Poult Sci.* 94: 976-83.
- VanDerWielen PW, Biesterveld S, Notermans S, Hofstra H, Urlings BA, VanKnapen F. 2000. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Appl Environ Microbiol.* 71: 2206-2207.
- Vendeland SC, Butler JA, Whanger PD. 1992. Intestinal absorption of selenite, selenate, and selenomethionine in the rat. *J Nutr Biochem.* 3: 359-365.
- Wit JJ, Baxendale W. 2000. Vaccine Classification. *MSD Animal Health*. [diakses 2020 Jan 17]. <http://www.gumboro.com/control/vaccination/vaccine-classification.asp>.
- Wulandari S, Kusumanti E, Isroli. 2014. Jumlah total leukosit dan diferensiasi leukosit ayam broiler sesudah penambahan papain kasar dalam ransum. *J Anim Agricultur.* 3(4):517-522.
- Xiao-ming S, Xiu-dong L, Lin L, Li-yang Z, Qiu-gang MA, Lin XI, Xu-gang L. 2017. Effect of in ovo zinc injection on the embryonic development, tissue zinc contents, antioxidation, and related gene expressions of broiler breeder eggs. *J Integrative Agric.* 16(0): 60345-7.
- Zhang CH, Yang H, Yang F, Ma Y. 2009. Current progress on butyric acid production by fermentation. *Curr Microbiol.* 59:656-663.



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Ciamis pada tanggal 7 Mei 1979. sebagai anak kedua dari pasangan alm. Enceng Tasripin dan almh. Ecin Kuraesin. Penulis saat ini baru ditinggal meninggal oleh istri yang dicintainya bernama Nia Rachmawati, SP., MSi pada tanggal 8 Juli 2020. Hasil pernikahannya dengan almarhumah pada tanggal 6 Maret 2004, penulis telah dikaruniai dua orang putri bernama Tania Kraesi Cahya Kafsina (16 tahun) dan Zalfa Kraesi Nata Aldebaran (5 tahun).

Riwayat pendidikan ditempuh sebagai berikut; Pendidikan SD hingga SLTA diselesaikan di kota kelahirannya yaitu SDN 1 Jatinagara (lulus tahun 1991), SMPN 1 Ciamis (lulus tahun 1994), SMUN 1 Ciamis (lulus tahun 1997), sedangkan pendidikan sarjana ditempuh di Program Studi Ilmu Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran Bandung (lulus tahun 2002). Melalui beasiswa Badan Litbang Pertanian, penulis mendapatkan kesempatan untuk melanjutkan studi Program Magister di Program Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor pada tahun 2006 dan lulus pada tahun 2008. Pada tahun 2017 penulis mendapatkan kesempatan beasiswa yang sama untuk melanjutkan studi program doktor (S3) di Sekolah Pascasarjana, Program studi Ilmu Nutrisi dan Pakan, IPB University.

Pengalaman kerjanya dimulai tahun 2003 sebagai tenaga detasiring BPTP Jawa Barat pada kegiatan sistem integrasi padi-ternak. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai CPNS Kementerian Pertanian dengan penempatan di Loka Penelitian Kambing Potong Sei Putih Sumatera Utara dan mendapatkan tugas jabatan fungsional sebagai peneliti bidang Nutrisi dan Pakan Ternak. Pada tahun 2014, penulis mendapatkan alih tugas ke Balai Penelitian Ternak Ciawi Bogor dengan tugas jabatan fungsional di bidang yang sama sampai sekarang.

Selama menempuh studi program doktor di Program studi Ilmu Nutrisi dan Pakan, penulis telah mempublikasikan artikel dari disertasi pada Jurnal Nasional *Wartazoa* volume 29 nomor 1 tahun 2019 dengan judul “Pemberian Secara Ovo Asam Butirat Menggantikan Peran Antibiotik Untuk Meningkatkan Produktivitas Unggas”. Artikel kedua juga sudah *accepted* pada Jurnal Internasional *Veterinary World* pada bulan Februari 2020 dengan judul “*Different Types of Selenium In Ovo Injection on Immunity, Villi Surface Area, and Performance of Local Chicken*”. Selain itu, salah satu tahap dari penelitian disertasi ini juga menjadi dasar dalam pembuatan mesin injeksi otomatis *in ovo feeding* pertama di Indonesia yang telah teregistrasi dalam pendaftaran paten dengan nomor P00202001192 tanggal 11 Februari 2020.