

## KETAHANAN TUBUH PADA AYAM BROILER YANG DIBERI EKSTRAK BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.)

E. Widiyanti\*; F. Wahyono; N. Suthama; L. Krismiyo

Departemen Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian

Universitas Diponegoro

Jl. drh. R. Soejono Koesoemowardojo Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah, Indonesia

Kode Pos 50275

\*E-mail : ermawidi123@gmail.com

**Abstrak** - Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap bobot relatif bursa, timus dan limpa serta rasio heterofil-limfosit (H/L). Ternak percobaan yang digunakan adalah ayam broiler sebanyak 144 ekor dengan rata-rata bobot badan  $196 \pm 10$  gram. Bahan yang digunakan meliputi zink basitrasin, tepung mengkudu dan ekstrak buah mengkudu. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan (masing-masing *flock* 6 ekor). Perlakuan yang diberikan yaitu T0 (ransum kontrol), T1 (ransum + 0,04% zink basitrasin), T2 (ransum + 1,5% tepung buah mengkudu), T3 (ransum + 0,04% ekstrak buah mengkudu), T4 (ransum + 0,08% ekstrak buah mengkudu), T5 (ransum + 0,12% ekstrak buah mengkudu). Pengukuran parameter diambil satu ekor ayam dari masing-masing *folck*. Parameter yang diamati adalah bobot relatif bursa fabrisius, timus dan limpa serta rasio heterofil-limfosit (H/L). Data dianalisis ragam dan uji Duncan pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak buah mengkudu berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) meningkatkan pada bobot bursa tapi pada taraf normal, sedangkan nyata menurunkan bobot timus, berbeda halnya bobot limpa T2 nyata menurunkan tetapi T5 kembali meningkat sama dengan T0, rasio H/L T4 nyata paling tinggi sedangkan lainnya sama. Simpulan adalah penambahan ekstrak mengkudu level 0,12% (T5) dapat mempertahankan bobot relatif organ limfoid dan rasio heterofil-limfosit.

**Kata kunci:** Ekstak mengkudu, organ limfoid, Rasio H/L, ayam broiler.

### 1. PENDAHULUAN

Ayam broiler merupakan unggas komersial yang dibudidayakan untuk menghasilkan daging dalam waktu singkat karena pertumbuhannya yang sangat cepat. Selain itu, ayam broiler juga memiliki keunggulan yang ditinjau dari segi mutu, daging ayam memiliki nilai gizi yang tinggi dibandingkan dengan ternak lainnya (Febriana, 2008). Peningkatan produktivitas ayam broiler dipengaruhi oleh penyediaan bibit unggul, pemenuhan pakan dan manajemen pemeliharaan termasuk pengendalian penyakit. Pemberian antibiotik dalam manajemen pemeliharaan dilakukan sebagai upaya untuk meningkatkan pertumbuhan dan pengendalian penyakit (Elisa *et al.*, 2017). Penggunaan antibiotik sebagai suplemen tambahan pada ransum berfungsi untuk memacu pertumbuhan ternak dan ketahanan sistem imun, namun penggunaan antibiotik yang terus-menerus memiliki kelemahan yaitu menyebabkan residu pada ayam serta manusia sehingga penggunaannya dilarang. Penggunaan antibiotik di Indonesia dilarang sejak 1 Januari 2018. Oleh karena itu perlu adanya upaya untuk menggantikan antibiotik yaitu ekstrak buah mengkudu (*Morindra citrifolia* L.) yang mempunyai kandungan zat aktif.

*Morinda citrifolia* L. merupakan tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat untuk kesehatan dan potensial untuk dikembangkan sebagai *feed supplement* untuk ternak. Kandungan zat aktif dalam buah mengkudu satu diantaranya adalah flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan (Amrianto *et al.*, 2017).

Antioksidan bermanfaat untuk meningkatkan ketahanan tubuh pada unggas. Kemampuan ketahanan tubuh pada unggas dapat dilihat melalui bobot organ limfoid (bursa, timus dan limpa) dan rasio heterofil limfosit (rasio H/L). Bursa berfungsi sebagai pembentuk antibodi. Semakin sering bursa membentuk antibodi maka menyebabkan deplesi dan pengecilan folikel limfoid yang diikuti dengan menurunnya jumlah limfosit, sehingga antibodi yang dihasilkan

menjadi rendah. Menurunnya jumlah limfosit mengakibatkan meningkatnya rasio H/L begitu pula sebaliknya (Rokhmana *et al.*, 2013)

Tujuan penelitian adalah untuk mengkaji dan mengetahui persentase penggunaan *Morinda citrifolia L.* yang tepat sebagai *feed suplement* ayam broiler terhadap bobot organ limfoid dan rasio H/L. Manfaat yang dapat diperoleh adalah penggunaan *Morinda citrifolia L.* sebagai *feed suplement* yang mempunyai zat aktif diantaranya flavonoid untuk mendukung produktivitas ayam broiler yang diharapkan terhadap ketahanan tubuh.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian tentang pengaruh penggunaan ekstrak buah mengkudu terhadap bobot organ relatif organ limfoid dan rasio H/L dilaksanakan pada tanggal 23 Januari 2019 sampai 4 Maret 2019 di Kandang Digesti dan Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Sampel darah dianalisis di Laboratorium Kesehatan Hewan, Kota Semarang untuk mengetahui rasio heterofil limfosit.

### 2.2. Ternak, ransum dan bahan penunjang

Ternak yang digunakan dalam penelitian yaitu ayam broiler *strai Cobb* yang diperoleh dari PT. Japfa Comfeed, Salatiga Jawa Tengah sebanyak 144 umur 15 hari dengan  $196 \pm 10$  gram. Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu ekstrak buah mengkudu, tepung buah mengkudu, zinc basitrasin. Ransum penelitian tersusu dari jagung giling, bekatul, bungkil kedelai, MBM, CaCO<sub>3</sub> dan VitMin (Tabel 1). Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu blender untuk membuat tepung buah mengkudu, tempat ransum, tempat minum, lampu 25 watt sebagai penerang dan penghangat kandang, timbangan digital dan *thermohigrometer*.

Tabel 1. Komposisi dan Kandungan Nutrisi Pakan

Bahan pakan	Komposisi (%)
Jagung giling	44,80
Bekatul	17,70
Bungkil kedelai	26,70
MBM	9,20
CaCO <sub>3</sub>	0,60
VitMin	1,00
Total	100
Kandungan Nutrisi * (%)	
Energi metabolis**	3001,96 (kkal/g)
Lemak kasar	3,82
Serat kasar	5,63
Protein kasar	21,06
Kalsium	1,06
Phospor	0,65

Keterangan :

\* berdasarkan hasil analisis proksimat setiap bahan penyusun ransum di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro.

\*\* Dihitung berdasarkan rumus Balton (1967) dalam Siswohardjono (1982).

## 2.3. Prosedur penelitian

### 2.3.1. Pembuatan ekstrak buah mengkudu

Buah mengkudu diperoleh dari tanaman disekitar masyarakat yang belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat kemudian di iris tipis dan dikeringkan dengan menggunakan oven suhu  $<30^{\circ}\text{C}$ . Buah mengkudu yang telah kering kemudian dibuat menjadi tepung. Tepung buah mengkudu kemudian di soxlet dan siap dimaserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam sampel kedalam pelarut etanol 70% sampai terendam seluruhnya selama  $\pm 72$  jam, kemudian disaring dengan kertas penyaring. Ekstrak maserasi yang dihasilkan ditampung menjadi satu dan diuapkan, untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat Rotary evaporator pada suhu  $45-50^{\circ}\text{C}$  sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental buah mengkudu. Ayam broiler dibagi secara acak ke dalam 6 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang 4 kali dan setiap ulangan terdiri dari 6 ekor ayam broiler.

### 2.3.2. Pemeliharaan ayam

Tahap ini dimulai dengan pemeliharaan ayam dari *day old chicken* (DOC) yaitu ayam umur 1-14 hari diberikan ransum komersial BR 11, selanjutnya mulai umur 15 – 42 hari diberi perlakuan. Selama 1 – 14 hari ayam diadaptasikan dengan ransum secara bertahap yaitu mulai 1 – 7 hari diberi ransum komersial 100%, umur 8 hari pemberian ransum berupa ransum komersial 75% : 25% ransum (T0), umur 9 hari berupa ransum komersial 50% : 50% ransum (T0), umur 10 hari berupa ransum komersial 25% : 75% ransum (T0), umur 11-15 hari berupa ransum (T0) 100% dan umur 15 – 42 hari diberi perlakuan. Vaksinasi menggunakan vaksin ND IB melalui tetes mata pada umur 4 hari dan vaksin gumboro pada ayam umur 8 hari sampai 14 hari.

### 2.3.3. Parameter penelitian

Parameter yang diamati meliputi bobot organ limfoid dan rasio heterofil-limfosit. Sampel darah untuk analisis rasio heterofil-limfosit diambil pada hari ke 42 sebelum *carcassing* dengan cara membersihkan sayap bagian dalam dengan alkohol, kemudian *syringe* disuntikkan pada pembuluh darah *vena brachialis*. Darah diambil  $\pm 2$  ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diberi antikoagulan berupa *ethylene diamine tetra acid* (EDTA) untuk menghindari pembekuan darah, kemudian disimpan di dalam *colling box* dan dilakukan analisis. Analisis darah dilakukan dengan cara meletakkan sampel darah dalam adaptor pada *Hematology Analyzer*, kemudian menutup tempat sampel dilanjutkan dengan menekan tombol “Run”. Hasil analisis akan muncul pada layar monitor secara otomatis. Rasio heterofil-limfosit dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rasio heterofil-limfosit} = \frac{\text{heterofil}}{\text{limfosit}}$$

Organ limfoid meliputi bursa fabrisius, limpa dan timus diperoleh dari ayam yang telah di dekapitasi (sembelih) kemudian dipisahkan secara teliti dan bersih dari daging dan lemak. Bobot organ limfoid ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dan selanjutnya dihitung bobot relatif dengan menggunakan rumus:

$$\text{Bobot relatif organ limfoid} = \frac{\text{bobot organ limfoid}}{\text{bobot hidup}} \times 100\%$$

## 2.4. Rancangan percobaan dan analisis statistik

Penelitian disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan, masing-masing ulangan terdiri 6 ekor ayam broiler. Perlakuan yang diberikan pada ayam broiler sebagai berikut:

T0: ransum (kontrol)

T1: ransum + 0,04% zink basitrasin

T2: ransum + 1,5% Tepung *Morinda citrifolia* L.

T3: ransum + 0,04% ekstrak *Morinda citrifolia* L.

T4: ransum + 0,08% ekstrak *Morinda citrifolia* L.

T5: ransum + 0,12% ekstrak *Morinda citrifolia* L.

Data hasil penelitian di uji secara statistik berdasarkan prosedur analisis ragam (uji F). Apabila terdapat pengaruh perlakuan yang nyata ( $P < 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan pada taraf 5%.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bobot relatif bursa dan timus nyata paling rendah dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya kecuali terhadap T3. Bobot limpa pada perlakuan T2 nyata paling rendah dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, sedangkan yang paling tinggi adalah T5 dan berbeda nyata terhadap T2 dan T4. Berbeda halnya dengan rasio H/L nilai yang paling tinggi T5 dan nyata dengan perlakuan lainnya, sedangkan antar perlakuan selain T5 tidak berbeda nyata (Tabel 2).

Tabel 2. Rasio H/L, Bobot Relatif Bursa Fabricius, Bobot Relatif Limpa dan Bobot Relatif Timus

Parameter	Perlakuan					
	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Bobot Bursa fabricius (%)	0,251 <sup>a</sup>	0,254 <sup>a</sup>	0,245 <sup>a</sup>	0,212 <sup>ab</sup>	0,222 <sup>a</sup>	0,170 <sup>b</sup>
Bobot Timus (%)	0,172 <sup>bc</sup>	0,278 <sup>a</sup>	0,229 <sup>ab</sup>	0,179 <sup>bc</sup>	0,206 <sup>b</sup>	0,139 <sup>c</sup>
Bobot Limpa (%)	0,126 <sup>ab</sup>	0,124 <sup>ab</sup>	0,087 <sup>c</sup>	0,127 <sup>ab</sup>	0,120 <sup>b</sup>	0,151 <sup>a</sup>
Rasio H/L (%)	0,120 <sup>b</sup>	0,121 <sup>b</sup>	0,135 <sup>b</sup>	0,116 <sup>b</sup>	0,132 <sup>b</sup>	0,201 <sup>a</sup>

Keterangan:

<sup>a-c</sup>Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ). T0 ransum kontrol, T1 ransum kontrol + 0,04% Zinc, T2: Pakan ransum + 1,5% Tepung *Morinda citrifolia* L., T3: Pakan ransum + 0,04% ekstrak *Morinda citrifolia* L., T4: Pakan ransum + 0,08% ekstrak *Morinda citrifolia* L. dan T5: Pakan ransum + 0,12% ekstrak *Morinda citrifolia* L.

Bobot organ bursa fabricius hasil penelitian berkisar antara 0,170 – 0,254 % (Tabel 2). Faktor yang mempengaruhi yaitu umur ternak yang digunakan semuanya sama, sehingga tingkat konsumsi dan pemanfaatannya hampir sama. Menurut Toghyani *et al.* (2010) bahwa bursa fabricius berkembang sepenuhnya pada umur 5-7 minggu, bobot bursa fabricius pada umur 42 yaitu 0,098 %. Konsumsi ransum yang rendah mengakibatkan pemanfaatan protein rendah, sehingga berdampak pada bobot bursa. Menurut Jamilah *et al.* (2013) bobot relatif bursa fabricius dipengaruhi oleh konsumsi protein, bila konsumsi protein rendah maka dapat menghambat pertumbuhan bursa fabricius. Konsumsi protein ransum yaitu 21,06 %. Pemberian ekstrak buah mengkudu dengan level yang tinggi akan berpengaruh pada rendahnya bobot relatif bursa fabricius. Menurut Fenita (2012) semakin tinggi level buah mengkudu di dalam ransum semakin menurun pertumbuhan bobot relatif bursa fabricius ayam broiler. Selain itu, pertumbuhan bursa fabricius dipengaruhi dari resistensi terhadap suatu gangguan. Menurut

Glick (1956) bahwa kecepatan tumbuh dan besarnya ada hubungannya dengan resistensi terhadap suatu gangguan.

Bobot organ timus dan organ limpa dalam kisaran normal. Bobot organ timus hasil penelitian berkisar 0,139 – 0,278% (Tabel 2). Bobot relatif timus dapat dikategorikan dalam kisaran normal, karena timus tidak banyak memetabolismekan zat aktif. Menurut Zhang *et al.* (2013) bobot timus saat ayam menetas lebih besar dan pada saat sudah dewasa mengalami pengecilan, presentasi normal bobot timus pada ayam broiler yaitu 0,26 – 0,38%. Ukuran timus yang paling besar adalah saat lahir. Menurut Febriana (2008) menyatakan bahwa ukuran relatif timus yang paling besar adalah saat lahir, sedangkan ukuran absolutnya terbesar pada waktu pubertas dan saat dewasa timus hilang karena adanya jaringan lemak. Timus berfungsi untuk mengatur respon sistem kekebalan terhadap sel yang terinfeksi. Menurut Dellman (1989) menyatakan bahwa timus akan berdiferensi menjadi limfosit T yang berfungsi mengatur respon sistem kekebalan tubuh.

Sama halnya dengan bobot organ limpa hasil penelitian berkisar 0,087 – 0,151. Hal tersebut menunjukkan bahwa bobot relatif limpa dalam kisaran normal. Menurut Putnam (1991) persentase bobot organ limpa berkisar 0,18 – 0,23% dari bobot badan. Pemberian ekstrak buah mengkudu yang mempunyai kandungan zat aktif khususnya flavonoid dapat meningkatnya jumlah limfosit sehingga mengakibatkan terjadinya perkembangan dan pertumbuhan limpa. Menurut Eriani *et al.* (2018) ekstrak buah mengkudu yang mengandung flavonoid dapat meningkatkan jumlah limfosit sehingga mengakibatkan terjadinya proliferasi limpa. Pembesaran limpa terjadi jika dalam tubuh ayam broiler terinfeksi bakteri. Menurut Merryana *et al.* (2007) pembesaran limpa terjadi jika dalam tubuh ayam broiler terinfeksi bakteri karena limpa berperan sebagai daya tahan tubuh dengan cara memproduksi limfosit. Limpa sangat berhubungan dengan rasio H/L karena limpa berfungsi mengambil antigen dari dalam darah. Menurut Jamilah *et al.* (2013) limpa bertugas untuk mengambil antigen dari dalam darah yang berikatan dengan limfosit dan jika ukuran limpa membesar berarti semakin banyak menampung antigen yang mengakibatkan limfosit bebas dalam darah berkurang rasio H/L meningkat, oleh karena itu limpa sangat berhubungan dengan rasio H/L.

Persentase rasio H/L hasil penelitian berkisar 0,116 – 0,201. Hal tersebut menunjukkan bahwa rasio H/L rendah, semakin rendahnya rasio H/L maka tingkat kenyamanan pada unggas baik. Menurut Emadi dan Kermanshasi (2007) nilai rasio H/L dapat menentukan tingkat ketahanan tubuh pada unggas dimana pada ayam broiler sekitar 0,2 (rendah), 0,5 (normal) dan 0,8 (tinggi). Ayam akan stres apabila sel heterofil meningkat dan sel limfosit menurun. Menurut Gross dan Siegel (1993) Semakin tinggi jumlah limfosit dan semakin rendah heterofil maka rasio heterofil-limfosit semakin rendah yang berarti tingkat cekaman semakin ringan dan sebaliknya. Penurunan rasio H/L dapat terjadi jika penurunan heterofil lebih besar dibandingkan dengan penurunan jumlah limfosit. Menurut Kusnadi (2008) rasio heterofil-limfosit (H/L) merupakan indikator stres utama pada unggas, dimana jika angka rasio tersebut semakin tinggi maka tingkat stres juga meningkat dan apabila nilai rasio rendah maka tingkat kenyamanan baik. Secara keseluruhan pemberian ekstrak buah mengkudu tidak mengganggu kenyamanan ayam, dilihat dari nilai rasio H/L.

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1.1. Kesimpulan

Penambahan ekstrak buah mengkudu berpengaruh nyata terhadap bobot bursa fabrisius, timus, limpa dan rasio heterofil-limfosit. Penambahan ekstrak mengkudu dapat mempertahankan bobot relatif organ limfoid dan rasio heterofil-limfosit.

##### 4.1.2. Saran

Perlu dilakukan pemeriksaan dan analisis lebih lanjut mengenai histologi jaringan organ limfoid untuk mengetahui tingkat atrofi atau hiperplasia.

## 5. DAFTAR PUSTAKA

- Amrianto, Mukarramah., D. Dandaris., N. A. Nahda dan D. P. Andi. 2017. Ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam bentuk sediaan transdermal liposome cream. Prosiding Seminar Nasional Biology for life ISBN: 978-602-72245-2-0. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN, Hasanudin. Makasar: 19-25.
- Dellman, B. 1989. Buku Teks Histologi Veteriner 1. Indonesia University Press, Jakarta (Diterjemahkan oleh R. Hartono).
- Elisa, W., E. Widiastuti dan T. A. Sarjana. 2017. Bobot relatif organ limfoid dan usus halus ayam broiler yang disuplementasi probiotik *bacillus plus*. Prosiding Seminar Teknologi dan Agribisnis Peternakan V. Fakultas Peternakan. Universitas Jenderal Soederman. 297 – 301.
- Emadi, M. and H. Kermanshasi. 2007. Effect of limestone particle size on the performance of three broiler breeder pure lines. *Int. Poult. Sci.* 6(1): 48-51.
- Eriani, K., Ainsyah., Rosnizar dan Ichsan. 2018. Uji efek imunostimulan ekstrakmetanoldaun flamboyan [*Delonix regia* (Boj. Ex Hook.) Raf.] Terhadap peningkatan sel-sel imun pada mencit strain swiss-webster. *Jurnal Natural.* 20 (6) : 39 – 44.
- Febriana, E. 2008. Gambaran Hipatologi Bursa Fabrissius dan Timus pada Ayam Broiler yang terinfeksi Marek dan Pengaruh Pemberian Bawang Putih, Kunyit dan Zink. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. (Skripsi).
- Fenita, Y. 2012. Pengaruh pemberian tepung buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dalam ransum terhadap performansi ayam broiler. *Jurnal Agroindustri.* 2 (1) : 21 – 27.
- Glick, B. 1956. Normal growth of the bursa of bursa fabrissius in chickens. *Poult. Sci.* 35: 845-851.
- Gross, W. B dan H. S. Siegel. 1993. Evaluaton of heterophil/limphocyte ratio as neasure of stress in chickens. *J. Avian Diseases.* 27 (4):972-979.
- Jamilah, N. Suthama dan L. D. Mahfudz. 2013. Performa produksi dan ketahanan tubuh broiler yang diberi pakan *step down* dengan penambahan asam sitrat sebagai *acidifier*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner.* 18 (4): 251-257.
- Kusnadi, E. 2008. Temperatur kandang terhadap konsumsi ransum dan omponen darah ayam broiler. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis.* 33 (3): 197-202.
- Merryana, F. O., M. Nahrowi, A. Ridla, R. Setiyono dan Ridwan. 2007. Performa broiler yang diberi pakan silase yang ditantang *Salmonella typhimurium*. Prosiding Seminar Nasional AINI VI. Yogyakarta, 26-27 Juli 2007. Hal. 186-194.
- Putnam, P. A. 1991. *Hanbook of Animal Science.* Academic Press, San Diego.
- Rokhmana. L. D., Estiningdriati dan W. Murningsih. 2013. Pengaruh penambahan bangle (*Zingiber casumunar*) dalam ransum terhadap bobot absolut bursa fabrissius dan rasio heterofil limfosit ayam broiler. *Animal Agriculture Journal.* 2(1) : 32-369.
- Siswohardjono, W. 1982. Beberapa Metode Pengukuran Energi Metabolis Bahan Makanan Ternak pada Itik. Makalah Seminar Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Toghayani, M., M. U. Atmomarsono dan L. D. Mahfudz. 2017. Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *Afr. J. Biotechnol.* 9 (40): 6819 – 6825.
- Zhang, Z. F., J. H. Cho and L. H. Kim. 2013. Effects of *Bacillus sibirilis* UBT-MO2 on growth performance, relative immune organ weight, gas concentration in excreta, and instestinal microbial shedding in broiler chickens. *J. Livest. Sci.* 155: 343-347.