

Respons Organ Saluran Pencernaan dan Morfologi Usus Halus Ayam Lokal dengan *In-Ovo Feeding* Menggunakan *L-Arginine*

Response of Digestive Tract Organs and Small Intestine Morphology of Native Chicken by In-Ovo Feeding of L-Arginine

M. Azhar^{1,*}, Rahmawati², U. Sara¹, M. Taufik¹

¹Jurusan Peternakan, Politeknik Pembangunan Pertanian Gowa

²Departemen Peternakan, Universitas Hasanuddin

* korespondensi e-mail: muhammadazhar030390@gmail.com

Diterima 13 Desember 2021; Disetujui 28 Maret 2022

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon organ saluran pencernaan dan morfologi usus halus ayam lokal dengan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine*. Sebanyak 375 butir telur (berat rata-rata 39-43 g) yang diperoleh dari induk ayam lokal umur 55-70 minggu di pembibitan ayam lokal komersil. Inkubator yang digunakan bertipe semi-otomatis yang memiliki ranges suhu 37-38 °C dengan kelembaban relative 65-75%. Hari ke-3 sampai hari ke-18 inkubasi dilakukan pemutaran telur 3 kali sehari pada pukul 07.00, 15.00, dan 23.00. Injeksi larutan *L-arginine* dilakukan hari ke-10 periode inkubasi pada area runcing telur dengan albumen sebagai target deposisi. Perlakuan *in-ovo feeding* dibagi menjadi 5 kelompok, perlakuan pertama tanpa injeksi (kontrol negatif), Perlakuan ke-2 injeksi larutan saline 0,9% (kontrol positif), Perlakuan ke-3 injeksi larutan *L-arginine* 0,5% (m/v), Perlakuan ke-4 injeksi larutan *L-arginine* 1,0% (m/v), dan perlakuan ke-5 injeksi larutan *L-arginine* 1,5% (m/v). setelah menetas, *day old chicken* (DOC) ditempatkan pada pen yang diisi 3 ekor ayam kelamin campuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ileum dengan perlakuan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine* lebih berat dibandingkan kontrol, hasil yang sama juga terjadi pada ukuran duodenum. Tinggi vili duodenum dan ileum mengalami peningkatan dengan *in-ovo feeding* menggunakan larutan *L-arginine*. *In-ovo feeding* menggunakan *L-arginine* 1,0% (m/v) menghasilkan respon organ saluran pencernaan yang terbaik, sedangkan morfologi usus halus terbaik dengan *In-ovo feeding* menggunakan *L-arginine* 1,5% (m/v) dari aspek tinggi vili duodenum, kedalam kripta duodenum, dan tinggi vili ileum.

Kata kunci: In-Ovo Feeding, Kripta, L-arginine, Morfologi Usus, Vili

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the response of the digestive tract organs and small intestine morphology of native chicken by *in-ovo feeding* of L-arginine. A total of 375 eggs (mean weight 39-43 g) were obtained from native chicken aged 55-70 weeks at commercial native chicken nursery. The incubator used is a semi-automatic type which has a temperature range of 37-38 °C with a relative humidity of 65-75%. On the 3rd to 18th day of incubation, eggs were rotated 3 times a day at 07.00, 15.00, and 23.00. The injection of L-arginine

solution was carried out on the 10th day of the incubation period in the pointed area of the egg with albumen as the target for deposition. In-ovo feeding treatment was divided into 5 groups, the first treatment was without injection (negative control), the second treatment was injection of 0,9% saline solution (positive control), the third treatment was injection of 0,5% L-arginine solution (m/v), the fourth treatment was injection of 1.0% L-arginine solution (m/v), and the fifth treatment was injection of 1,5% L-arginine solution (m/v). after hatching, the day old chicken (DOC) was placed in a pen filled with 3 mixed chickens. The results showed that the ileum with in-ovo feeding treatment using L-arginine was heavier than the control, the same results also occurred in the size of the duodenum. The height of the duodenum and ileum villi was increased by in-ovo feeding using L-arginine solution. In-ovo feeding using L-arginine 1.0% (m/v) produced the best digestive tract organs response, while the best intestinal morphology with In-ovo feeding using L-arginine 15% (m/v) from the high aspect of the duodenum villi, into the duodenum crypt, and the height of the ileum villi.

Keywords: In-Ivo Feeding, Crypt, L-Arginine, Intestine Morphology, Villi

PENDAHULUAN

Saluran pencernaan merupakan salah satu organ penting untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan ayam (Adli *et al.*, 2020). Point utama diawal pemeliharaan ayam berfokus untuk memaksimalkan performans saluran pencernaan, terutama pada organ-organ yang memiliki fungsi utama untuk penyerapan nutrisi. Ayam ras komersil secara genetik memiliki performa saluran yang sangat baik dari aspek konversi pakan. Namun, ayam lokal secara umum tidak memiliki kemampuan konversi pakan yang baik karena potensi genetik yang rendah. Hasil penelitian Nurmi *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa nilai konversi pakan ayam ras komersil 55.84% lebih rendah dibandingkan ayam lokal.

Konversi pakan yang rendah pada ayam lokal disebabkan kemampuan absorsi nutrisi dari organ-organ penyerapan juga rendah. Untuk meningkatkan kemampuan absorsi nutrisi pakan pada saluran pencernaan ayam dapat dilakukan dengan meningkatkan performa organ saluran pencernaan. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa peningkatan performa saluran pencernaan dapat dilakukan dengan menstimulus penambahan luas permukaan usus halus (Wang *et al.*, 2019), meningkatkan fungsi sel dinding saluran pencernaan (Han *et al.*, 2018), dan menambah jumlah sel kripta (Proszkowiec-Weglarz *et al.*, 2020).

Stimulus peningkatan performa saluran pencernaan ayam lebih optimal dilakukan pada awal pemeliharaan. Sedangkan Fatemi *et al.*, (2021), Reicher *et al.*, (2021), dan Chen *et al.*,

(2021) melaporkan bahwa manipulasi fungsi dari organ penyerapan lebih optimal dilakukan pada fase embrional. Stimulus pertumbuhan dan perkembangan saluran pencernaan difase embrional bertujuan untuk meningkatkan aktifitas pembelahan sel saluran pencernaan. Jumlah sel yang banyak pada fase embrional, diasumsikan bahwa sel tersebut akan berkembang pada fase pasca tetas sehingga memiliki kemampuan pencernaan dan absorsi nutrisi yang lebih baik dibandingkan dengan ayam dengan jumlah sel saluran pencernaan yang sedikit.

Aktifitas pembelahan sel ayam pada fase embrional berdasarkan laporan Foye *et al.*, (2007), Fouad *et al.*, (2012), dan Yu *et al.*, (2018) dapat distimulus dengan penambahan L-arginine melalui teknik *in-ovo feeding*. Teknik *in-ovo feeding* dilakukan dengan cara menambahkan cairan nutrisi dari luar kedalam telur tetas selama periode inkubasi. *In-ovo feeding* menggunakan L-arginine dilaporkan oleh Azhar *et al.*, (2016) dapat meningkatkan berat embrio, berat tetas, dan performa pasca tetas ayam lokal. Sedangkan Al-Daraji *et al.*, (2012) mengemukakan bahwa *in-ovo feeding* menggunakan L-arginine memperbaiki konversi pakan dan meningkatkan persentase karkas. Kondisi tersebut diyakini terjadi karena L-arginine mampu menstimulus produksi IGF-1 untuk perbanyak jumlah sel yang berdampak pada peningkatan luas permukaan dan massa organ, seperti yang dilaporkan oleh Omid *et al.*, (2020) pada broiler.

Perlakuan *in-ovo feeding* pada ayam lokal selama ini masih terbatas pada pengamatan embrional dan pasca tetas. Informasi mengenai pengaruh *in-ovo feeding* menggunakan L-arginine terhadap performa organ saluran pencernaan sangat terbatas. Sehingga perlu dilakukan pengamatan untuk mengetahui respon organ saluran pencernaan dan morfologi usus halus ayam lokal dengan *in-ovo feeding* menggunakan L-arginine.

MATERI DAN METODE

Inkubasi Telur

Proses inkubasi dan *in-ovo feeding* dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Produksi Ternak Unggas, Universitas Hasanuddin. Sebanyak 375 butir telur yang diperoleh dari induk ayam lokal umur 55-70 minggu di pembibitan ayam lokal komersil di Kabupaten Pinrang Sulawesi Selatan. Telur yang digunakan sebagai sampel memiliki berat rata-rata 39-43 g. Sebelum di inkubasi, telur didesinfeksi menggunakan alkohol 40% dan dimasukkan kedalam mesin tetas semi-otomatis yang memiliki ranges suhu 37-38 °C dengan kelembaban

relative 65-75%. Hari ke-3 sampai hari ke-18 inkubasi dilakukan pemutaran telur 3 kali sehari pada pukul 07.00, 15.00, dan 23.00. Hari ke-7 inkubasi dilakukan peneropongan, telur yang tidak fertile dan mengalami kematian embrio dikeluarkan dari mesin tetas. Telur yang fertil dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan.

Prosedur *In-Ovo Feeding*

Injeksi larutan L-arginine dilakukan hari ke-10 periode inkubasi pada area runcing telur dengan albumen sebagai target deposisi. Perlakuan *in-ovo feeding* dibagi menjadi 5 perlakuan dan disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan pertama tanpa injeksi (kontrol negatif), Perlakuan ke-2 injeksi larutan saline 0,9% (kontrol positif), Perlakuan ke-3 injeksi larutan L-arginine 0,5% (m/v), Perlakuan ke-4 injeksi larutan L-arginine 1,0% (m/v), dan perlakuan ke-5 injeksi larutan L-arginine 1,5% (m/v). Injeksi dilakukan dengan kedalaman 10 mm dari cangkang telur, menggunakan injektor otomatis dengan ukuran jarum 26 G x 0,5 (0,45 x 13 mm). Setiap telur diinjeksi 0,5 ml larutan *in-ovo feeding*. lubang pada cangkang telur dari proses injeksi ditutup menggunakan silikon. semua proses injeksi dilakukan pada kondisi aseptik.

Manajemen Pemeliharaan

45 ekor DOC yang berasal dari hasil penetasan ditempatkan secara acak pada pen yang berukuran tinggi x panjang x lebar (0,5 x 1 x 0,5 m). pen memiliki dinding yang terbuat dari sekatan bambu dan dilapisi litter serbuk gergaji dengan ketebalan 3 cm. Sebelum digunakan, pen terlebih dahulu disemprot dengan desinfektan menggunakan *sprayer*. Setiap pen diisi 3 ekor ayam kelamin campuran. Masing-masing pen dilengkapi dengan sebuah lampu pijar 60 watt, tempat makan, tempat minum dan kain penutup. Selama 14 hari pemeliharaan, lampu berfungsi sebagai pemanas, sedangkan dinding bambu berfungsi sebagai *chick guard* yang dilapisi kertas untuk menghindari pelepasan panas didalam pen.

Selama pemeliharaan (42 hari), sumber air minum yang digunakan adalah air sumur yang telah diklorinasi terlebih dahulu dan diberikan secara *ad-libitum* dan dilakukan pergantian tiap pagi dan sore hari. Pakan yang digunakan adalah pakan komersil (*crumble* BP 11) dengan kandungan nutrisi seperti Tabel 1. dan diberikan secara *ad-libitum*. Vitamin diberikan pada ayam melalui air minum pada umur 1, 2, 3, 7, 8, dan 9 hari. Sedangkan antibiotik diberikan pada umur 4, 5, dan 6 hari. Pada umur 4 hari, dilakukan vaksinasi *newcastle disease (ND live)* melalui tetes mata.

Tabel 1. Kandungan Nutrisi akan *Crumble* BP 11

Nutrisi Pakan	Kandungan*
Kadar air	13,0 %
Kadar Protein	21,0-23,0%
Kadar Lemak	5,0 %
Serat	5,0 %
Kadar Abu	7,0 %
Kalsium	0,9 %
Posfor	0,6 %

* Label pakan *crumble* BP 11 PT. Charoen Pokphand Indonesia

Preparasi Sampel Organ Saluran Pencernaan

Pegamatan sampel organ saluran pencernaan diawali dengan melakukan pemotongan ayam pada umur 42 hari. Proses pemotongan mengikuti metode dari (Sjofjan *et al.*, 2020). Saluran pencernaan yang diamati mulai dari esofagus sampai kloaka. Setiap bagian saluran pencernaan dipisahkan menggunakan gunting bedah yang terdiri dari esofagus, tembolok, proventrikulus, *gizzard*, duodenum, jejunum, ileum, *caeca*, dan usus besar. Masing-masing bagian saluran pencernaan ditimbang dengan timbangan analitik dan untuk duodenum, jejunum, dan ileum dilanjutkan dengan pengukuran panjang dengan pita ukur. duodenum, jejunum, dan ileum selanjutnya dimasukkan kedalam pot sampel yang berisi larutan formalin 10% untuk pembuatan preparat histologi.

Pembuatan Preparat Histologi

Preparat histologi dibuat berdasarkan metode Chen *et al.*, (2012), sampel usus halus dari larutan formalin dihidrasi melalui satu seri alkohol yang konsentrasinya bertingkat semakin tinggi. Sampel ditransfer satu demi satu kedalam setiap konsentrasi alkohol dan dibiarkan terendam dalam setiap konsentrasi alkohol tersebut kurang lebih 15 detik. Sampel selanjutnya dimasukkan kedalam *xyltol* dan terakhir dicelupkan kedalam parafin. Menggunakan *microtome*, sampel disayat tipis untuk selanjutnya dilakukan pengecatan *haemotoxylin-eosin* pada *objek glass* dan ditutup dengan *cover glass*.

Pengambilan dan Pengamatan Gambar Histologi

Gambar histologi diperoleh dari hasil pemotretan menggunakan mikroskop menggunakan alat OptiLab yang terhubung dengan komputer. Hasil gambaran histologi yang diperoleh dimasukkan kedalam program Axio Visio Rel. 4.8.2. Pengamatan gambar histologi program Axio Visio Rel. 4.8.2. disesuaikan dengan skala perbesaran mikroskop

yang digunakan saat pengambilan gambar. Pengamatan tinggi vili dan kedalaman kriptas menggunakan perbesaran 40x.

Analisis Statistik

Data yang diperoleh dianalisis ragam berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Apabila perlakuan memperlihatkan pengaruh yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan software SPSS 20. Data hasil analisis disajikan dalam bentuk mean \pm standar deviasi berdasarkan masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Organ Saluran Pencernaan

Hasil analisis varian (Tabel 2) menunjukkan bahwa *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine* nyata berpengaruh ($P < 0.05$) terhadap berat ileum, panjang duodenum, dan berat usus besar. Sedangkan berat esofagus, berat tembolok, berat proventrikulus, berat *gizzard*, berat duodenum, berat jejunum, panjang jejunum, panjang ileum, berat *caeca*, dan berat total saluran pencernaan tidak menunjukkan adanya pengaruh ($P > 0.05$) dengan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine*. Berat ileum, panjang duodenum, dan berat usus besar dengan perlakuan *in-ovo feeding* lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Ileum dengan perlakuan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine* lebih berat dibandingkan kontrol. Hasil yang sama juga terjadi pada ukuran duodenum dengan perlakuan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine*. Hasil penelitian yang serupa juga dilaporkan oleh Reicher *et al.*, (2021) dan Chen *et al.*, (2021), bahwa injeksi *in-ovo feeding* menggunakan seyawa protein akan meningkatkan ukuran usus halus. Peningkatan berat ileum dan panjang duodenum kemungkinan terjadi karena peningkatan tinggi vili ileum dan duodenum serta kedalaman kriptas duodenum. Namun, perubahan ukuran usus halus tidak hanya dipengaruhi oleh ukuran morfologi usus halus (luas permukaan, vili, kriptas). Reis *et al.*, (2017) dan Park & Carey (2019) menjelaskan bahwa perubahan massa dan ukuran organ saluran pencernaan dapat dipengaruhi oleh aktifitas enzimatik dan respon imun. Sedangkan Wang *et al.*, (2019) melaporkan bahwa tekstur pakan merupakan salah satu faktor terhadap perubahan morfologi saluran pencernaan.

Tabel 2. Respon Organ Saluran Pencernaan Ayam Lokal Umur 42 Hari dengan *In-Ovo Feeding* Menggunakan *L-Arginine*

Parameter	Perlakuan <i>In-Ovo</i>				
	Kontrol -	Kontrol +	<i>L-Arginine</i> 0.5%	<i>L-Arginine</i> 1.0%	<i>L-Arginine</i> 1.5%
Berat Esofagus (g)	3,03±0,43	3,17±0,34	3,94±0,66	3,31±0,40	3,25±0,15
Berat Tembolok (g)	1,93±0,53	2,12±0,24	1,98±0,36	1,92±0,11	1,52±0,31
Berat Proventrikulus (g)	2,77±0,45	2,67±0,10	3,23±0,71	3,16±0,56	3,43±0,51
Berat Gizzard (g)	17,35±3,21	14,39±0,46	19,60±4,41	17,57±1,42	18,60±2,62
Berat Duodenum (g)	5,06±1,03	3,89±0,41	5,03±0,40	5,07±0,82	5,94±1,80
Berat Jejunum (g)	6,24±1,25	5,91±0,30	5,59±1,54	7,52±0,62	5,62±1,15
Berat Ileum (g)	3,00±0,14 ^a	2,98±0,05 ^a	4,19±0,34 ^{bc}	4,95±0,70 ^c	4,06±0,54 ^b
Panjang Duodenum (cm)	17,75±0,45 ^a	17,65±0,25 ^a	19,50±0,70 ^{bc}	19,15±0,55 ^b	20,15±0,35 ^c
Panjang Jejunum (cm)	32,95±0,25	34,30±3,40	37,80±4,10	36,50±3,90	34,85±3,55
Panjang Ileum (cm)	33,50±1,30	31,65±0,95	35,65±2,45	38,15±6,75	37,10±0,20
Berat Caeca (g)	3,98±0,27	3,32±0,35	4,68±0,40	6,08±2,55	5,29±0,27
Berat Usus Besar (g)	1,09±0,16 ^a	1,38±0,36 ^{ab}	1,59±0,24 ^{ab}	1,98±0,88 ^{bc}	2,56±0,15 ^c
Berat Total Saluran Pencernaan (g)	44,48±0,53	39,85±0,78	49,86±6,86	51,58±8,85	50,28±6,66

^{abc}: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)

Morfologi Usus Halus

Hasil analisis varian (Tabel 3) menunjukkan bahwa *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine* nyata berpengaruh (P<0,5) terhadap tinggi vili duodenum, kedalaman cripta duodenum, tinggi vili ileum. Sedangkan tinggi vili jejunum, kedalaman cripta jejunum, dan kedalaman kripta ileum tidak menunjukkan adanya pengaruh (P>0.05) dengan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine*. Vili duodenum dan ileum dengan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine* 1,0% dan 1,5% lebih tinggi dibandingkan kontrol dan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine* 05%. kedalaman kripta semakin tinggi dengan bertambahnya konsentrasi *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tinggi vili duodenum dan ileum mengalami peningkatan dengan *in-ovo feeding* menggunakan larutan *L-arginine* 1.5%. peningkatan tersebut mungkin disebabkan oleh bertambahnya jumlah sel pada vili duodenum dan ileum pada periode inkubasi. Vili dengan jumlah sel yang lebih banyak diasumsikan akan bertumbuh dan berkembang lebih cepat selama fase pasca tetas, sehingga berdampak pada peningkatan tinggi vili. Fouad *et al.*, (2012) dan melaporkan bahwa peningkatan level *L-arginine* inkubasi dapat meningkatkan aktifitas pembelahan sel pada periode inkubasi. Pengaruh *L-arginine* terhadap aktifitas pembelahan sel terjadi karena *L-arginine* mampu

menstimulus produksi IGF-1 (Yu *et al.*, 2018). Aktifitas IGF-1 tersebut yang menstimulus aktifitas pembelahan sel. Namun, perlu dilakukan investigasi lebih lanjut peningkatan level IGF-1 dengan pemberian *L-arginine* pada periode inkubasi.

Tabel 3. Morfologi Usus Halus Ayam Lokal Umur 42 Hari dengan *In-Ovo Feeding* Menggunakan *L-Arginine*

Parameter	Perlakuan <i>In-Ovo</i>				
	Kontrol -	Kontrol +	<i>L-Arginine</i> 0.5%	<i>L-Arginine</i> 1.0%	<i>L-Arginine</i> 1.5%
Duodenum					
- Tinggi Vili (µm)	837,12±102,71 ^a	913,50±35,16 ^a	992,80±70,43 ^a	1712,35±130,65 ^b	1744,78±92,14 ^b
- Kedalaman Cripa (µm)	188,62±19,71 ^a	197,96±12,84 ^a	257,30±17,68 ^b	401,40±7,69 ^c	492,05±53,20 ^d
Jejunum					
- Tinggi Vili (µm)	894,68±11,60	789,80±88,87	855,03±105,58	866,98±107,94	900,26±81,57
- Kedalaman Cripa (µm)	187,67±23,88	195,58±14,99	155,56±39,48	168,56±50,53	178,18±11,07
Ileum					
- Tinggi Vili (µm)	444,75±8,36 ^a	661,72±51,36 ^b	694,43±66,85 ^b	978,67±21,46 ^c	847,50±103,46 ^d
- Kedalaman Cripa (µm)	100,71±17,43	112,16±5,49	160,52±53,99	162,00±32,77	168,73±21,22

^{abc}: superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)

Ukuran vili dan kripta usus kecil menjadi indikator luas permukaan saluran pencernaan. Hasil penelitian Fatemi *et al.*, (2021), Barri *et al.*, (2011) dan Reicher *et al.*, (2021) pada broiler menunjukkan bahwa meningkatnya ukuran vili dan kripta usus kecil juga diikuti dengan bertambahnya luas permukaan usus kecil. Luas permukaan penyerapan memiliki korelasi yang kuat dengan absorsi nutrisi pakan. Permukaan usus yang luas akan menyebabkan meningkatnya kemampuan absorsi nutrisi pakan selama proses pencernaan (Chen *et al.*, 2021).

Absorsi nutrisi pakan yang semakin tinggi, akan berdampak pada menurunnya nilai konversi pakan. Hasil yang serupa juga diungkapkan oleh Wang *et al.*, (2019) pada ayam ras tipe petelur, Reis *et al.*, (2017) pada ayam ras tipe pedaging, dan Liao *et al.* (2021) pada itik. Konversi pakan yang rendah berdampak pada peningkatan berat badan (Azhar *et al.*, 2016; Al-Daraji *et al.*, 2012; Azhar *et al.*, 2019). Secara keseluruhan diasumsikan bahwa peningkatan level *L-arginine* pada periode inkubasi dapat memperbaiki kemampuan konversi pakan ayam lokal. Meskipun masih perlu dilakukan pengamatan lebih detail mengenai aktifitas absorsi nutrisi pakan ayam lokal dengan *in-ovo feeding* menggunakan *L-arginine*.

KESIMPULAN

In-ovo feeding menggunakan *L-arginine* mampu memberikan hasil yang optimal pada organ saluran pencernaan dan morfologi usus halus ayam lokal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adli, D. N., Sjoftan, O., Natsir, M. H., Nuningtyas, Y. F., Sholikhah, N. U., and Marbun, A. C. 2020. The effect of replacing maize with fermented palm kernel meal (FPKM) on broiler performance. *Livestock Research Rural Development*, 32 (120). <https://lrrd32/7/danung32120.html>
- Al-Daraji, H. J., Al-Mashadani, A. A., Al-Hayani, W. K., Al-Hassani, A. S., and Mirza, H. A. 2012. Effect of in ovo injection with L-arginine on productive and physiological traits of Japanese quail. *South African Journal of Animal Sciences*, 42(2), 139-145. <https://doi.org/10.4314/sajas.v42i2.6>
- Azhar, M., Rahardja, D. P., and Pakiding, W. 2016. Embryo development and post-hatch performances of kampung chicken by in ovo feeding of L-arginine. *Media Peternakan*, 39(3), 168-172. <https://doi.org/10.5398/medpet.2016.39.3.168>
- Azhar, M., Mirnawati, Sara, U., Rahadja, D. P., dan Pakiding, W. 2019. Pengaruh In Ovo Feeding L-Arginine terhadap Konsumsi Pakan, Pertambahan Berat Badan, dan Konversi Pakan Ayam Kampung. *Jurnal Peternakan Lokal*, 1(2), 16-20.
- Barri, A., Honaker, C. F., Sottosanti, J. R., Hulet, R. M., & McElroy, A. P. 2011. Effect of incubation temperature on nutrient transporters and small intestine morphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 90(1), 118-125. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00908>
- Chen, M.J., Zhou, J.Y., Chen, Y.J., Wang, X.Q., Yan, H.C., and Gao, C.Q. 2021. The in ovo injection of methionine improves intestinal cell proliferation and differentiation in chick embryos by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Animal Nutrition*, 7(4), 1031-1038. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.03.009>
- Chen, W., Tangara, M., Xu, J., and Peng, J. 2012. Developmental transition of pectoral muscle from atrophy in late-term duck embryos to hypertrophy in neonates. *Experimental Physiology*, 7, 861-872. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2011.061234>
- Fatemi, S. A., Alqhtani, A., Elliott, K. E. C., Bello, A., Zhang, H., and Peebles, E. D. 2021. Effects of the in ovo injection of vitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D3 in Ross 708 broilers subsequently fed commercial or calcium and phosphorus-restricted diets. I. Performance, carcass characteristics, and incidence of woody breast myopathy^{1,2,3}. *Poultry Science*, 100(8), 101220. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101220>
- Fouad, A. M., El-Senousey, H. K., Yang, X. J., and Yao, J. H. 2012. Role of dietary L-arginine in poultry production. *International Journal of Poultry Science*, 11(11), 718-729. <https://doi.org/10.3923/ijps.2012.718.729>
- Foye, O. T., Ferket, P. R., and Uni, Z. 2007. The effects of in ovo feeding arginine, β -hydroxy- β -methyl- butyrate, and protein on jejunal digestive and absorptive activity in embryonic and neonatal turkey poults. *Poultry Science*, 86(11), 2343-2349. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00110>
- Han, J. C., Zhang, J. L., Zhang, N., Yang, X., Qu, H. X., Guo, Y., Shi, C. X., and Yan, Y. F. 2018. Age, phosphorus, and 25-hydroxycholecalciferol regulate mRNA expression of Vitamin D receptor and sodium-phosphate cotransporter in the small intestine of broiler chickens. *Poultry Science*, 97(4), 1199-1208. <https://doi.org/10.3382/ps/pex407>

- Liao, L., Li, J., Li, J., Huang, Y., and Wu, Y. 2021. Effects of Astragalus polysaccharides on intestinal morphology and intestinal immune cells of Muscovy ducklings infected with Muscovy duck reovirus. *Poultry Science*, 100(1), 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.10.021>
- Nurmi, A., Harahap, N., and Santi, M. A. 2018. Performance of Broilers and Native Chickens Fed with Unfermented and Fermented Arenga Waste. *Indonesian Journal of Agricultural Research*, 1(2), 96–104. <https://doi.org/10.32734/injar.v1i2.311>
- Omidi, S., Ebrahimi, M., Janmohammadi, H., Moghaddam, G., Rajabi, Z., and Hosseintabar-Ghasemabad, B. 2020. “The Impact of in Ovo Injection of L-Arginine on Hatchability, Immune System and Caecum Microflora of Broiler Chickens.” *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 104(1):178–85. doi: 10.1111/jpn.13222.
- Park, J., and Carey, J. B. 2019. Dietary Enzyme Supplementation in Duck Nutrition: A review. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(3), 587–597. <https://doi.org/10.3382/japr/pfz041>
- Proszkowiec-Weglarz, M., Schreier, L. L., Kahl, S., Miska, K. B., Russell, B., and Elsasser, T. H. 2020. Effect of delayed feeding post-hatch on expression of tight junction- and gut barrier-related genes in the small intestine of broiler chickens during neonatal development. *Poultry Science*, 99 (10), 4714–4729. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.023>
- Reicher, N., Melkman-Zehavi, T., Dayan, J., Wong, E. A., and Uni, Z. 2021. Nutritional stimulation by in-ovo feeding modulates cellular proliferation and differentiation in the small intestinal epithelium of chicks. *Animal Nutrition*. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.06.010>
- Reis, M. P., Fassani, E. J., Garcia, A. A. P., Rodrigues, P. B., Bertechini, A. G., Barrett, N., Persia, M. E., and Schmidt, C. J. 2017. Effect of *Bacillus subtilis* (DSM 17299) on performance, digestibility, intestine morphology, and pH in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 26(4), 573–583. <https://doi.org/10.3382/japr/pfx032>
- Sjofjan, O., Adli, D. N., Natsir, M. H., Nuningtyas, Y. F., Bastomi, I., and Amalia, F. R. 2021. The effect of increasing levels of palm kernel meal containing α - β -mannanase replacing maize to growing-finishing hybrid duck on growth performance, nutrient digestibility, carcass trait, and VFA. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 46(1).<https://doi.org/10.14710/jitaa.46.1.29-39>
- Wang, J., Wang, B., Du, H., Zhang, H., Li, H., Wang, F., and Zhao, X. 2019. Effects of *Diutina rugosa* SD-17 on growth performance, intestine morphology, and immune status of chickens. *Poultry Science*, 98(12), 6311–6318. <https://doi.org/10.3382/ps/pez428>
- Yu, L. L., Gao, T., Zhao, M. M., Lv, P. A., Zhang, L., Li, J. L., Jiang, Y., Gao, F., and Zhou, G. H. 2018. Effects of in ovo feeding of l-arginine on breast muscle growth and protein deposition in post-hatch broilers. *Animal*, 12 (11), 2256–2263. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000241>