

Suplementasi Ekstrak Buah Asam Kandis (*Garcinia xanthochymus*) dalam Air Minum sebagai Acidifier: Pengaruh terhadap Profil Darah dan Diferensiasi Leukosit Puyuh Jepang (*Coturnix coturnix japonica*)

Supplementation of Sour Mangosteen (*Garcinia xanthochymus*) Fruit Extract in Drinking Water as an Acidifier: Effects on Blood Profile and Leukocyte Differentiation in Japanese Quails (*Coturnix coturnix japonica*)

T Y Sakti¹, S Suharti¹, D M Suci^{1*}

Corresponding email:
dwi.margiz@gmail.com,

¹Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB University, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

ABSTRACT

Organic acids, including those found in sour mangosteen (*Garcinia xanthochymus*) fruit extract, have the potential as alternatives to antibiotics. This study aimed to evaluate the effect of sour mangosteen fruit extract (SME) supplementation at different acidity levels (pH 4, pH 3, and pH 2) as an acidifier on the blood profile and leukocyte differentiation of adult female Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). A completely randomized design (CRD) was applied with four treatments: a control without SME supplementation (P0) and groups receiving SMFE-supplemented drinking water adjusted to pH 4 (P1), pH 3 (P2), and pH 2 (P3). Each treatment was replicated three times with 11 heads per replicate. The extract was administered twice weekly from 6 to 12 weeks of age. All quails were fed a commercial layer diet containing 20% crude protein, 4% crude fat, 6% crude fiber, 4% calcium, and 0.6% total phosphor. The observed parameters included blood profile indices (erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, leukocytes) and leukocyte differentiation (lymphocytes, monocytes, heteropils, and neutrophils). The results indicated that SME supplementation at pH 4, pH 3 and pH 2 in drinking water did not significantly affect the blood profile or leukocyte differentiation. These finding suggest that *Garcinia xanthochymus* fruit extract at these acidity levels can be effectively utilized as an acidifier in drinking water.

Key words: acidifier, blood profile, *Garcinia xanthochymus*, *Coturnix coturnix japonica*

ABSTRAK

Asam organik, termasuk yang terdapat dalam ekstrak buah asam kandis (*Garcinia xanthochymus*), memiliki potensi sebagai alternatif pengganti antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh suplementasi ekstrak buah asam kandis (EAK) pada derajat keasaman (pH) yang berbeda (pH 4, pH 3, and pH 2) sebagai acidifier terhadap profil darah dan diferensiasi leukosit puyuh Jepang betina dewasa (*Coturnix coturnix japonica*). Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan: kontrol tanpa suplementasi EAK (P0) dan kelompok yang menerima air minum yang disuplementasi EAK dengan pH 4 (P1), pH 3 (P2) dan pH 2 (P4). Setiap perlakuan diulang tiga kali dengan 11 ekor puyuh per ulangan. Ekstrak diberikan dua kali seminggu dari umur 6 hingga 12 minggu. Semua puyuh diberi pakan komersial layer yang mengandung 20% protein kasar, 4% lemak kasar, 6% serat kasar, 4% kalsium, dan 0,6 % fosfor total. Peubah yang diamati meliputi profil darah (eritrosit, hemoglobin, hematokrit, leukosit) dan diferensiasi leukosit (limfosit, monosit, heterofil, dan neutrofil). Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi EAK pada pH 4, pH 3 dan pH 2 dalam air minum tidak secara signifikan memengaruhi profil darah maupun diferensiasi leukosit. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak buah *Garcinia xanthochymus* pada tingkat keasaman tersebut dapat dimanfaatkan secara efektif sebagai acidifier dalam air minum.

Kata kunci: acidifier, asam kandis (*Garcinia xanthochymus*), *Coturnix coturnix japonica*, profil darah



PENDAHULUAN

Unggas yang dipelihara sangat rentan terhadap kontaminan bakteri patogen yang dapat menurunkan performa. Bakteri patogen banyak mengkontaminasi unggas melalui air minum. Meningkatnya permasalahan performa, meningkatnya *feed conversion ratio* dan meningkatkan kejadian penyakit menular akibat larangan penggunaan *feed additive* yang mengandung antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan (Hamid et al. 2018). Pada saat ini banyak berkembang penelitian tentang penggunaan *acidifier* sebagai pengganti antibiotik. *Acidifier* mengkondisikan suasana asam pada usus halus agar menghasilkan kondisi yang baik untuk pertumbuhan *Lactobacillus* dan mikroba non patogen lain. Asam organik yang banyak digunakan sebagai *acidifier* pada unggas adalah asam asetat, asam format, asam sitrat, asam butirat, asam laktat, asam fumarat, asam malat, asam sorbat, asam propionat (Khalil et al. 2017).

Asam organik dapat memperbaiki pencernaan melalui peningkatan kinerja enzim pencernaan, mengasamkan usus (menurunkan pH) serta mengontrol keseimbangan mikroorganisme pada saluran pencernaan. Suplemen ini mempunyai dampak besar pada fungsi saluran pencernaan unggas dengan mengubah populasi mikroba melalui depolarisasi membran bakteri dengan perubahan keasaman internal bakteri (Heidari et al. 2018)

Suplemen berbagai asam organik telah ditemukan untuk meningkatkan performa unggas (Has et al. 2020; Suharto et al. 2020; Suci et al. 2024; Lückstädt et al. 2023, Hamid et al. 2018). Pemberian *acidifier* berupa asam organik dapat menekan bakteri patogen yang mengkontaminasi air minum. Asam organik terdisosiasi menurunkan nilai pH, agar tercipta kondisi yang tidak menguntungkan bagi bakteri patogen (Lückstädt et al. 2023). Pengasaman yang digunakan melalui air juga dapat digunakan secara strategis atau selama pemeliharaan untuk menekan infeksi bakteri (Lückstädt et al. 2023). Air minum yang diasamkan dapat meningkatkan pertumbuhan dengan menghasilkan keasaman lambung, dan mengendalikan bakteri patogen pada ayam pedaging dan dapat dianggap sebagai alternatif potensial untuk meningkatkan produksi (Hamid et al. 2018). Pemberian asam organik dapat berupa tunggal atau campuran dapat meningkatkan performa ayam broiler (Ali et al. 2020). Jenis asam organik dengan dosis optimal yang berbeda dapat menghasilkan performa yang optimal (Khalil et al. 2017) Asam organik dari ekstrak buah asam kandis dapat digunakan sebagai *acidifier* alternatif pengganti antibiotik. Menurut Murmu et al. (2016), tanaman *Garcinia* sp (asam kandis) family *Clusiaceae* mempunyai 200 jenis di dunia. Salah satu jenis *Garcinia* sp yang ada di Indonesia dapat dimanfaatkan sebagai *acidifier* adalah buah *Garcinia xanthochymus*. Buah asam kandis yang sudah dikeringkan dan di ekstrak menghasilkan larutan yang mempunyai rasa asam. Parthasarathy & Nandakishore (2014) melaporkan bahwa asam kandis

(*G. xanthochymus*) mengandung asam organik total 10,95% yang terdiri atas asam sitrat 8,00%, asam malat 0,73%, asam oksalat 0,37%, asam tartarat 0,20%, HCA 0,10% dan asam asetat 0,04%. Kandungan asam organik pada asam kandis (*G. xanthochymus*) adalah asam oksalat (oxalic acid), asam galakturonat (galacturonic acid), asam tanin (tannin acid), asam askorbat (ascorbic acid), asam malat (malic acid), asam suksinat (succinic acid) dan asam sitrat (citric acid) (Prakash et al. 2020). Asam organik yang paling tinggi adalah asam tanin diikuti oleh asam galakturonat, asam sitrat dan asam malat (Prakash et al. 2020).

Penggunaan asam organik sebagai *acidifier* sangat penting pada puyuh untuk meningkatkan performa produksi telur asam organik untuk menghasilkan saluran pencernaan yang sehat. Selain itu asam kandis salah satu herbal yang berpotensi tumbuh di Indonesia dan mempunyai kandungan asam organik. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi suplemen ekstrak buah asam kandis dalam air minum dengan derajat keasaman yang berbeda terhadap profil darah dan diferensiasi leukosit pada puyuh betina dewasa.

METODE

Ternak Percobaan

Puyuh jepang layer yang digunakan pada penelitian sebanyak 132 ekor berumur 42 minggu. Pemeliharaan dilakukan selama 6 minggu yang dibagi secara acak ke dalam 4 perlakuan dan 3 ulangan. Sebanyak 24 ekor puyuh digunakan sebagai sampel uji profil darah merah.

Perkandangan

Kandang koloni yang memuat 11 ekor puyuh dengan ukuran 30 cm x 50 cm x 18 cm disediakan sebanyak 12 petak. Kandang koloni ini dilengkapi satu tempat pakan, satu tempat air minum, serta peralatan kandang lainnya.

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak buah asam kandis

Satu liter air mendidih dimasukkan 40 g buah asam kandis kering (Gambar 1) yang disebut dengan larutan biang asam kandis. Larutan EAK disimpan dalam suhu ruangan selama 24 jam dan disebut dengan biang EAK yang digunakan untuk membuat larutan *acidifier* EAK perlakuan. Perlakuan *acidifier* EAK pH 2 dibuat dengan mengencerkan biang EAK 1 L dengan 1,5 L air. Perlakuan *acidifier* EAK pH 3 dibuat dengan mengencerkan larutan biang EAK 1 L dengan 4 L air. Perlakuan *acidifier* EAK pH 4 dibuat dengan mengencerkan larutan biang EAK 1 L dengan 23 L air.

Pemeliharaan puyuh

Sebanyak 132 ekor puyuh berumur 42 minggu dimasukkan secara acak pada 12 kandang koloni. Pemberian air minum setiap hari dan *ad libitum*.



Gambar 1 Buah asam kandis kering

Pemberian pakan puyuh layer komersial setiap hari sebanyak 25 g ekor⁻¹ hari⁻¹. Penelitian ini dilakukan selama 6 minggu. Pada akhir minggu dilakukan penimbangan sisa pakan pada setiap ulangan. Semua puyuh diberi pakan komersial layer yang mengandung 20% protein kasar, 4% lemak kasar, 6% serat kasar, 4% kalsium, dan 0,6 % fosfor total.

Setiap ulangan yang berisi 11 ekor puyuh diberi air minum sebanyak 1 liter per hari. Pemberian perlakuan EAK selama 2 hari berturut turut dalam 1 minggu. Perlakuan diberikan mulai puyuh umur 6 minggu sampai 12 minggu.

Pengambilan darah

Sampel darah diambil pada puyuh betina umur 12 minggu. Sebelum puyuh diambil darah, puyuh tidak diberi pakan. Sampel darah untuk menguji profil darah diambil dari 24 ekor puyuh, satu ulangan 2 ekor. Pengambilan sampel darah menggunakan syringe yang ditusukkan pada leher puyuh pada bagian pembuluh darah vena jugularis. Sampel darah diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung yang terdapat antikoagulan (EDTA). Tabung disimpan pada suhu dingin menggunakan termos es sampai dilakukan analisis. Sampel plasma darah diperoleh dengan mensentrifuge darah dengan kecepatan 8000 rpm selama 15 menit. Sampel plasma darah dimasukkan ke tabung eppendorf yang terdapat tulisan perlakuan untuk dianalisis.

Pengukuran jumlah eritrosit

Darah diambil menggunakan pipet eritrosit sampai batas 0,5. Sampel darah dicampur dengan pelarut *Rees Ecker* sampai dengan batas 101 yang tertera pada pipet. Pipet yang berisi sampel dikocok dengan konsisten dengan gerakan angka 8 atau menggunakan alat pengocok. Perhitungan eritrosit dari setiap sampel di bawah mikroskop. Perhitungan eritrosit berdasarkan

Sastradipradja *et al.* (1989) yaitu butir darah merah dan untuk mengetahui jumlah sel darah merah dalam 1 mm³ darah dihitung menggunakan rumus $n \times 104$.

Pengukuran hematokrit

Tabung kapiler digunakan untuk menghisap sampel darah dengan menyentuhkan ujung tabung darah dan menggoyang-goyang ujung lainnya menggunakan telunjuk, posisi tabung hampir mendatar. Bagian ujung tabung kira-kira 1 cm dikosongkan. Bagian ujung tabung ditutup dengan alat penutup khusus. Tabung dimasukkan ke alat sentrifuge dengan bagian tak tersumbat mengarah ke pusat sentrifuge. Tabung disentrifuge selama 5 menit menggunakan kecepatan 10 000 rpm. *Micro Hematocrit Reader* digunakan untuk membaca hasil sentrifuge (Sastradipradja *et al.* 1989).

Pengukuran hemoglobin

Pengukuran hemoglobin menggunakan tabung Sahli yang diisi larutan HCl 0,1 N sampai angka 20 (garis paling bawah pada tabung). Pipet sahli digunakan untuk menghisap darah beserta aspiratornya sampai batas angka 2 (0,02 ml) perlahan-lahan. Ujung pipet dibersihkan, darah segera dikeluarkan ke tabung Sahli. Tabung Sahli diletakkan di antara kedua bagian standar warna dalam alat hemoglobinometer. Kemudian pencampuran darah dengan HCL 0,1 N dibiarkan 3 menit sampai terbentuk asam hematin berwarna cokelat. Selanjutnya aquades ditambahkan ke dalam tabung sedikit sedikit sambil diaduk sampai terbentuk warnanya sama dengan warna standar. Nilai hemoglobin ditentukan berdasarkan Sastradipradja *et al.* (1989) dengan melihat skala g% tinggi permukaan cairan pada tabung Sahli.

Pengukuran jumlah leukosit

Sampel darah diambil menggunakan pipet leukosit sampai batas 0,5 selanjutnya ujung pipet dicelupkan dalam cairan pengencer (larutan Rees Ecker) dihisap sampai batas 11. Pipet dikocok menggunakan gerakan angka 8 atau alat pengocok. Kemudian dilakukan penghitungan menggunakan mikroskop. Jumlah leukosit terhitung disimbolkan dengan n dan untuk jumlah leukosit dalam 1 mm³ darah dihitung menggunakan rumus $n \times 50$ (Sastradipradja *et al.* 1989).

Diferensiasi leukosit

Sampel darah dibuat preparat ulas ± 2 cm. Preparat ulas difiksasi menggunakan metanol 75% selama 5 menit selanjutnya diangkat sampai kering udara. Preparat ulasan darah direndam pada larutan Giemsa selama 30 menit, kemudian diangkat, dicuci menggunakan air kran yang mengalir agar zat warna yang berlebihan menghilang, selanjutnya dikeringkan menggunakan kertas isap. Preparat ulas diletakkan dibawah mikroskop menggunakan pembesaran 1 000 kali, ditambah minyak imersi, selanjutnya dihitung limfosit, heterofil, monosit, dan eosinofil secara zigzag menggunakan pembesaran 1000 kali sampai jumlah total 100 butir leukosit (Sastradipradja *et al.* 1989).

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 4 perlakuan dengan 3 ulangan. Setiap ulangan diambil sebanyak 2 sampel puyuh dengan perlakuan tingkat pemberian air minum ekstrak buah asam kandis yang berbeda.

Perlakuan tersebut meliputi :

P0 : Air minum tanpa suplementasi larutan EAK

P1 : Air minum disuplementasi EAK pH 4

P2 : Air minum disuplementasi EAK pH 3

P3 : Air minum disuplementasi EAK pH 2

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis ragam (ANOVA) dan jika menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata dilanjutkan analisis Uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil Darah Puyuh Layer

Suplementasi EAK pada air minum puyuh sebagai *acidifier* tidak berpengaruh nyata terhadap profil darah puyuh (eritrosit, hemoglobin, hematokrit dan leukosit). Profil darah puyuh dengan pemberian suplemen EAK dalam air minum disajikan pada Tabel 1. Suplementasi EAK dalam air minum dari pH 2 menjadi pH 4 tidak berbeda dengan profil darah merah kontrol. Kisaran nilai hematokrit, hemoglobin, eritrosit dan leukosit yang diperoleh dari hasil penelitian ini normal. Sinergis dengan penelitian Suci et al. (2024) yang melaporkan bahwa profil darah puyuh pada kontrol diperoleh kadar hematokrit $37 \pm 1,73$ %, hemoglobin $11,33 \pm 0,11$ g%⁻¹, eritrosit $1,64 \pm 0,42$ 10⁶ butir mm⁻³, dan leukosit $17,67 \pm 9,50$ (10³ butir mm⁻³). Selain itu hasil penelitian ini juga sesuai dengan Costachescu et al. (2009) dan Sturkie & Griminger (1976). Ekstrak asam kandis (EAK) yang di suplemen ke dalam air minum menghasilkan nilai profil darah yang normal. Profil darah yang normal dapat diakibatkan juga dengan tidak berpengaruhnya pH larutan *acidifier* terhadap kesehatan saluran pencernaan dan menyebabkan performa juga normal (Prasmanasari et al. (2021). Profil darah yang normal karena tidak terjadi perubahan pH di saluran pencernaan walaupun diberi air minum dengan pH yang rendah. Menurut Aliverdi-Nasab (2022), pemberian *acidifier* dalam pakan sampai 3 g kg⁻¹ pakan tidak mempengaruhi pH saluran

pencernaan, pH gizzard 3,67-3,86, duodenum 5,88 - 6, jejunum 6-6,22, ileum 6,95-7,07 sekum 5,31- 5,63 yang tidak berbeda dengan kontrol.

Diferensiasi Leukosit Puyuh Layer

Rataan diferensiasi suplementasi EAK dalam air minum tertera pada Tabel 2. Perlakuan suplementasi EAK tidak mempengaruhi leukosit dan diferensiasi leukosit yaitu limfosit, monosit, dan heterofil. Nilai eusinofil dan basofil tidak terdapat data karena nilai lebih rendah daripada standar analisis. Pada penelitian ini tidak terlihat pengaruh suplemen EAK pada pH 2-pH 4 dalam air minum dibandingkan kontrol terhadap diferensiasi leukosit disebabkan oleh tidak terdapatnya perbedaan manajemen pemeliharaan, tingkat stres panas dan pakan. Tingkat stres panas yang merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi profil darah tidak signifikan berbeda. Selain itu dengan manajemen yang baik infeksi penyakit pada saat pemeliharaan tidak terlihat. Pada penelitian diperoleh diferensiasi leukosit untuk limfosit berkisar 32,66% - 46,33 %, monosit 1,33% - 2,16%, heterofil berkisar 52,33 - 65,66% dan neutrofil berkisar 52,33% - 65,66%. Anggraeni et al. (2016) menyatakan kadar limfosit $61,34 \pm 0,28$ %, kadar monosit $1,33 \pm 0,33$ % dan kadar heteropil $37,33 \pm 0,27$ % (perlakuan kontrol). Mihailov et al. (1999) diferensiasi leukosit pada puyuh betina limfosit $75,5 \pm 1,23$ %, monosit $0,17 \pm 0,09$ %, heteropil $21,87 \pm 0,71$ %, sedangkan eusinopil $2,33 \pm 0,65$ % dan basofil $0,13 \pm 0,09$ %. Suci et al. (2024) limfosit $64,67 \pm 9,71$ %, heterofil $24,67 \pm 3,51$ %, monosit $1,33 \pm 0,57$ %. Bhattacherjee et al. (2021), pada puyuh betina dewasa nilai limfosit $42,1 \pm 4,41$ %.

Pada penelitian ini nilai limfosit jauh lebih rendah dibandingkan literatur Anggraeni et al. (2016), Muhailov et al. (1999) dan Suci et al. (2024). Hal ini diduga disebabkan oleh perbedaan suhu pada saat penelitian. Pada penelitian ini suhu kandang yang didapatkan dalam penelitian ini berkisar 31-33°C. Pada kondisi stres panas maka nilai limfosit akan menurun karena adanya sekresi glukokortikoid yang dapat menyebabkan atrofi organ limfosit (Santoso et al. 2020; Maheswari et al. 2017).

Tabel 1 Rataan jumlah profil darah (hematokrit, hemoglobin, eritrosit, dan leukosit) darah puyuh layer jepang disuplementasi EAK (ekstrak asam kandis) pada air minum

Peubah	Pemberian larutan EAK pada pH berbeda			
	Kontrol (P0)	pH 4 (P1)	pH 3 (P2)	pH2 (P3)
Hematokrit (%)	36,13 ± 5,33	35,16 ± 5,42	35,33 ± 2,56	33,63 ± 2,24
Hemoglobin (g% ⁻¹)	17,51 ± 2,47	19,11 ± 2,00	19,23 ± 1,37	17,61 ± 2,89
Eritrosit (10 ⁶ mm ⁻³)	3,59 ± 0,44	3,42 ± 0,42	3,34 ± 0,51	3,29 ± 0,31
Leukosit (10 ³ mm ⁻³)	7,86 ± 3,77	9,46 ± 7,18	7,23 ± 1,31	10,03 ± 2,86

Tabel 2 Rataan diferensiasi leukosit darah puyuh diberi perlakuan EAK (ekstrak asam kandis) pada air minum

Peubah (%)	Pemberian larutan EAK pada pH berbeda			
	Kontrol (P0)	pH 4 (P1)	pH 3 (P2)	pH 2 (P3)
Limfosit (%)	33,50±15,02	41,33±12,48	46,33±24,62	32,66 ± 9,79
Monosit (%)	2,00 ± 1,67	2,16 ± 0,75	1,33 ± 0,51	1,66 ± 0,81
Heterofil (%)	64,50±15,16	56,50±12,42	52,33±24,71	65,66±10,40
Eusinofil (%)	-	-	-	-
Basofil (%)	-	-	-	-

SIMPULAN

Suplementasi EAK pada air minum pH 2, pH 3, dan pH 4 menunjukkan nilai profil darah dan diferensiasi leukosit yang sama dengan perlakuan kontrol. Ekstrak buah asam kandis dapat digunakan sebagai *acidifier* pada puyuh layer.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali AM, El Agrab HM, Hamoud MM, Gamal AM, Mousa MR, Nasr AAE, El Shater MAH, Laban SE, Zahran OK & Ali MM. 2020. Effect of acidified drinking water by organik acid on broiler performance and gult health. *Advances in Animal and Veterinary Science* 8 (12): 1301-1309
- Aliverdi-Nasab, K, Zhandi M, Yousefi AR, Zahedi V & Rafieian-Naeini HR. 2022. The effect of acidifier supplementation on egg production performance and intestinal histology of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Veterinary Medicine and Science*. 9 (1): 263-271
- Anggraeni N, Farajallah A & Astuti DA. 2016. Blood profile of quails (*Coturnix coturnix japonica*) fed ration containing silkworm pupae (*Bombyx mori*) powder extract. *Media Peternakan* 39 (1) : 1-8
- Bikrisima SHL, Mahfudz LD & Suthama N. 2013. Ketahanan tubuh ayam broiler pada kondisi tropis yang diberi jambu biji merah (*psidium guajava*) sebagai sumber antioksidan. *Agromedia* 31: 46-57.
- Bhattacharjee A, Mohanty PK, Mallik BK. 2021. Hematological and Cytometrical Parameters of Japanese Quails *Coturnix Coturnix Japonica*, Temminck & Schlegel, 1848 as Per Sex and Different Stages of Growth. *Research Square* page 1-8 DOI:[10.21203/rs.3.rs-722063/v1](https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-722063/v1)
- Costachescu DFI, Boisteanu PC & Lazar R. 2009. Characteristics of the hematological profile in the meat preparation. *Scientific Paper-Animal Science Series: Lucrari-Seria Zootehnie* 70 : 155-160
- Hamid H, Shi HQ, Ma GY, Fan Y, Li WX, Zhao LH, Zhang JY, Ji C & Ma QG. 2018. Influence of acidified drinking water on growth performance and gastrointestinal function of broiler. *Poultry Science* 97 (10): 3601-3609
- Hasan MA, Yusuf MS, Kilany OE, Khalil HA, Hanafi AM & Hassan AM. 2015. Evaluation of essential oil mixture overuse on gut health and some immune parameters in laying Japanese quail (*Coturnix coturnix Japonica*). *International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering* 89 : 14-22
- Heidari MR, Sadeghi AA & Rezaeipour V. 2018. Effect of acidifier supplementation and toxin binder on performance, carcass, blood metabolites, intestinal morphology and microbial population in broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 8(3) : 469 - 476
- Khalil I, Alam M, Barua M, Miazi OF & Hossain ME. 2017. Effects of acidifier supplementation on performance parameter, serum lipoprotein and carcass characteristics of broiler chicken. *Indian Journal of Poultry Science*. 52(3): 249 – 254.
- Lokapirnasari WP, Al-Arif MA, Hidayatik N, Safiranisa A, Arumdani DF, Zahirah AI, Yulianto AB, Lamid M, Marbun TD, Lisnanti EF, Baihaqi ZA, Khairullah AR, Kurniawan SC, Pelawi EBS, & Hasib A. 2024. Effect of probiotics and acidifiers on feed intake, egg mass, production performance, and egg yolk chemical composition in late-laying quails. *Veterinary World Journal*. 17: 462-469.
- Lückstädt C, Petrovic S & Teh K. 2023. The influence of drinking water acidification in broilers under Indonesian condition. Conference on International Research on Food Security, National Resources Management and Rural Development. Berlin (DE) : Tropentag
- Maheswari H, Sasmita An, Farajallah A, Achmadi P & Santoso K. 2017. The influence of temperature on leucocytes differentiation and malondialdehyde level in quail (*Coturnix coturnix Japonica*). *Bioma* 13 (1): 81-85
- Mihailov R, Lasheva V & Lashev L. 1999. Some hematological values in japan Quail. *Bulgarian of Veterinary* 2 (2-3) : 137-139
- Murmu P, Kumar S, Patra JK, Sigh NR & Rath SK. 2016. Etnobotanical, Nutritional, phytochemical and antimicrobial studies of *Garcinia xanthorchymus* fruit extracts. *British Biotechnology Journal* 13 (2): 1-11
- Parthsarathy U & Nandakishore OP (2014). A study on nutrient and medicinal composition of selected Indian *Garcinia* sp. *Current Bioactive Compound* 10: 55-61
- Prasmanasari MBW, Hermana W & Mutia R. 2021. Evaluation of kandis acid (*Garcinia xanthocymus*) as acidifier on broiler performance. *Advance on Biological Science Research* 21:106-111
- Prakash J, Sallaram S, Martin A, Veeranna RP & Peddha MS. 2022. Phytochemical and functional characterization of different parts of the *Garcinia xanthochymus* fruit. *ACS Omega* 7: 21172-21182
- Santoso K, Widyashari AS, Poetri ON, & La Jumadin 2020. Profil leukosit puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) yang mendapat ekstrak daun singkong dalam mengatasi dampak cekaman panas. *Jurnal Veteriner* 21 (3): 367-373
- Suci DM, Ratulangi CRY, Hermana H & Darmawan A. 2024. Blood profile and leukocyte differentiation of *Coturnix coturnix japonica* with addition of african leaf juice (*V. Amygdalina*) in drinking water. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 19 (1) : 1-6
- Sastradipraja D, Sikar SHS, Widjajakusuma R, Ungerer T, Maad A, Nasution H, Sunawinata R & Hamzah R. 1989. Penuntun Praktikum Veteriner. PAU Ilmu Hayat. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Sturkie PD & Griminger P. 1976. Blood: *physical characteristics, formed elements, hemoglobin and coagulation*. Dalam: Sturkie, P. D. (Editor). *Avian physiology*. 3rd Edition. Springer-Verlag New York Inc