

PENGARUH EKSTRAK PATIKAN KEBO (*Euphorbia hirta* L) SEBAGAI HERBAL ANTIVIRAL INFECTIOUS BRONCHITIS (IB) TERHADAP PERFORMA EMBRIO PADA TELUR AYAM BEREMBRIO (TAB)

Freih Jailani dan Nurul Humaidah

¹Program S1 Peternakan, ²Pusat Kajian Bioteknologi Peternakan Fakultas Peternakan
Universitas Islam Malang
Email: jailanifreih@gmail.com

Abstrak

Penyakit *Infectious bronchitis* (IB) adalah penyakit yang dapat menyerang saluran pernapasan ayam yang disebabkan oleh virus Coronavirus. Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) adalah tanaman herbal berkhasiat obat. Patikan kebo mengandung Flavonoid, Mirisil, Alkaloid, Laraserol, Hentriakontanol dan Komositin sebagai anti bakteri, anti virus, anti cacing. Tujuan Penelitian dirancang untuk mengetahui kemampuan aktivitas antiviral ekstrak Patikan Kebo terhadap virus IB. Metode riset adalah eksperimental. Variabel yang diamati lesi makroskopis embrio dan berat embrio. Perlakuan berupa dosis ekstrak Patikan Kebo yang diinjeksikan pada Telur Ayam Berembrio (TAB) umur 9 hari. Ada lima perlakuan yaitu P1= 0,01%, P2= 0,1%, P3= 1 %, k+ = kontrol tanpa ekstrak Patikan Kebo dan K- = kontrol tanpa virus. Masing-masing perlakuan ada lima ulangan. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji independent sample T-test dengan program SPSS. Hasil ANOVA menunjukkan bahwa pemberian Patikan Kebo berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap lesi makroskopis embrio dan berat embrio. Ekstrak Patikan Kebo dengan dosis 0,1% memiliki sifat antiviral yang paling bagus dengan rerata presentasi embrio hidup paling tinggi yaitu 80% dan berat badan embrio 4,58 gram $\pm$ 0,65 gram. Kesimpulan adalah ekstrak Patikan Kebo mempunyai potensi antiviral herbal terhadap virus Infectious Bronchitis (IB).

Kata kunci : Antiviral, Infeksius, Bronkhitis, embrio, ayam

EFFECT OF PATIKAN KEBO (*Euphorbia hirta* L) EXTRACT AS AN ANTIVIRAL INFECTIOUS BRONCHITIS (IB) HERBAL ON EMBRYO PERFORMANCE IN EMBRIOUS CHICKEN EGGS (TAB)

Abstract

Infectious bronchitis (IB) is a disease that can attack the respiratory tract of chickens caused by the Coronavirus. Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) is a medicinal herbal plant. Patikan kebo contains Flavonoids, Mirisil, Alkaloids, Laraserol, Hentriakontanol and Komositin as anti-bacterial, anti-viral, anti-worm. The research objective was designed to determine the antiviral activity of the Patikan Kebo extract against the IB virus. The research method is experimental. The variables observed were embryo macroscopic lesions and embryo weight. The treatment was in the form of a dose of Patikan Kebo extract which was injected into Embryo Chicken Eggs (TAB) aged 9 days. There were five treatments, namely P1 = 0.01%, P2 = 0.1%, P3 = 1%, k+ = control without Patikan Kebo extract and K- = control without virus. Each treatment had five replications. Data were analyzed by ANOVA and independent sample T-test with the SPSS program. The results of ANOVA showed that the administration of Patikan Kebo have a real impact ($p < 0.05$) to embryonic macroscopic lesions and embryo weight. Patikan Kebo extract at a dose of 0.1% has the best antiviral properties with the highest mean percentage of live embryos, namely 80% and embryo body weight of 4.58 grams $\pm$ 0.65 grams. The conclusion is Patikan Kebo extract has herbal antiviral potential against viruses Infectious Bronchitis (IB).

Keywords: Antivirals, Infectious, Bronchitis, embryo, chicken

PENDAHULUAN

Penyakit *Infectious bronchitis* (IB) adalah penyakit yang dapat menyerang saluran pernapasan ayam yang disebabkan oleh virus Coronavirus. Penyakit Infectious Bronchitis yang menular adalah anggota keluarga Coronaviridae (ordo Nidovirales) dan genus Coronavirus yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran pernapasan, usus, dan menyerang saraf pada ayam. (Cao et al., 2012). Penyakit IB di Indonesia masih menjadi problem serius pada ayam sehubungan dengan banyak varian yang ada akibat mutasi disebabkan oleh virus IB (Dharmayanti et al., 2017). Virus corona mudah bermutasi karena materi genetiknya adalah RNA. RNA mudah mutasi di dalam sel inang untuk mengelabui sistem kekebalan tubuh sel inang. Salah satu faktor yang dapat menyebabkan mutasi adalah karena virus masuk di tubuh hewan perantara.

Penularan virus IB pada ayam terjadi secara langsung melalui kontak antara ayam sakit dan sehat dan secara tidak langsung melalui peralatan kandang, pakan, air, anak ayam dalam kandang dan transportasi. Namun, belum ada laporan penularan vertikal (melalui telur) dari induk ke anaknya. Penyakit ini biasanya khusus untuk peternakan tertentu, terutama jika kebersihan dan disinfeksi tidak diperhatikan (Tabbu, 2000). Ternak unggas merupakan ternak yang paling peka terhadap penyakit adalah ayam dan sering terjadi pada semua umur. Kasus kematian sering terjadi pada ayam yang berumur kurang dari enam minggu. Perlu upaya untuk memberikan pencegahan antiviral baik pada pakan maupun air minum ayam sehingga ayam bebas dari Virus IB dan kasus kematian dapat dicegah. Upaya preventif corona IB dapat diupayakan dengan memberikan preparat herbal antiviral yang dapat diberikan pada pakan dan air minum ayam.

Penelitian tentang tanaman herbal yang digunakan untuk meningkatkan kekebalan ayam terhadap

virus sudah banyak yang dilakukan tetapi belum pada Virus IB. dan Gerson (2018) telah melakukan penelitian efektivitas herbal rempah melalui air terhadap respon titer Virus *New Castle Diseases* (ND) ayam pedaging Virus ND adalah penyebab penyakit ND unggas dengan mortalitas tinggi. Uji kekebalan ayam terhadap virus Avian influenza (AI) dengan menggunakan herbal kombinasi Meniran dan Temu Giring dilakukan oleh Akhmad dan Tri (2017). Hasil penelitian melaporkan herbal tersebut berpotensi meningkatkan titer antibodi. Virus ND dan AI adalah virus yang menyerang sistem pernapasan ayam.

Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) adalah tanaman herbal yang berhasiat sebagai obat. Patikan kebo mengandung *Flavonoid, Mirisil, Alkaloid, Laraserol, Hentriakontanol dan Komositin*. Khasiat sebagai obat yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengatasi gangguan pencernaan dan sebagai anti bakteri, anti virus, anti cacing (Djauhari dan Hernani, 2004). Patikan Kebo sudah diteliti oleh Puspitasari (2021). pada ransum pakan terhadap pertambahan berat badan, konversi pakan dan konsumsi air minum di ayam fase starter terhadap performa produksi ayam broiler. April (2001) melaporkan bahwa bentuk sediaan perasan, infusa, serta ekstrak dapat menaikkan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, serta nilai hematokrit di ayam yang diinfeksi E. Tenella. Penelitian pemanfaatan herbal Patikan Kebo secara *in ovo* yaitu menggunakan telur ayam berembrio (TAB) untuk mengetahui antiviral terhadap corona ayam (IB) terhadap performa embrio yang belum pernah dilakukan. Penelitian secara *in ovo* adalah metode yang paling baik untuk melihat respon antibodi terhadap uji tantangan virus (Amal, 2018).

Tujuan Penelitian dirancang untuk mengetahui kemampuan aktivitas antiviral ekstrak Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) terhadap unggas dengan menggunakan telur ayam berembrio (TAB) sebagai bahan

percobaan. Dalam penelitian ini dikaji lesi makroskopis dan berat embrio yang diberi ekstrak Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) untuk melihat kemampuan aktivitas antiviral melalui perkembangan embrio.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Universitas Islam Malang pada tanggal 1 Juni 2022 sampai tanggal 30 Juli 2022. Materi pada penelitian adalah telur ayam berembrio (TAB) *Specific Pathogen Free* (SPF) berumur 9 hari. Alat yang digunakan dalam riset ini yaitu : Bunsen, candler, Cawan Patri, Sduit 1, pinset, gunting, Spatel, mortir, sumuran, stamper, inkubator. Bahan yang digunakan yaitu : Phosphate bufer saline (PSB), kapas, telur ayam berembrio (TAB), Alkohol, Aquadest steril, Ekstrak Patikan Kebo, Suspensi Virus IB.

Metode riset adalah eksperimental. Variabel yang diamati lesi makroskopis embrio dan berat embrio. Perlakuan berupa dosis ekstrak Patikan Kebo yang diinjeksikan pada Telur Ayam Berembrio (TAB) umur 9 hari terdiri dari lima perlakuan dan lima ulangan dengan masing-masing perlakuan adalah konsentrasi ekstrak Patikan Kebo yaitu 0,01% (P1), 0,1% (P2) , 1 % (P3), kontrol tanpa ekstrak Patikan Kebo (K+) dan kontrol tanpa virus (K-).

- **Prosedur Penyiapan TAB (Mabrur, dkk . 2018)**

Telur Ayam Berembrio (TAB) yang digunakan sebagai media yaitu telur berumur 9 hari. Sebelum digunakan, TAB diperiksa terlebih dahulu untuk memastikan embrio dalam keadaan hidup atau mati dengan cara diperiksa menggunakan egg candler atau teropong telur. Embrio hidup dapat dilihat dari gerakan embrio dan pembuluh darah yang masih tampak merah. Setelah didapatkan

TAB yang masih hidup, maka langkah selanjutnya adalah membuat tanda pada kantong udara menggunakan pensil. Pada 5 mm di atas batas bawah kantong udara dan jauh dari embrio, juga diberikan tanda untuk tempat injeksi. TAB yang digunakan berasal dari golongan yang bebas dari patogen atau *Specific Pathogen Free* (SPF).

- **Prosedur pembuatan Ekstrak Patikan Kebo (Handa et al, 2008)**

Bagian tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Patikan Kebo dengan kriteria tidak terlalu muda dan tidak terlalu kering. Patikan Kebo lalu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut Metanol 98%. Maserasi dilakukan selama 3×24 jam. Hasil sampel ekstrak Patikan Kebo dari proses maserasi diuapkan menggunakan alat rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak berbentuk pasta. Ekstrak tersebut dilarutkan dengan Aqua pro hingga diperoleh konsentrasi 1%, 0,1% dan 0,01%.

- **Pembuatan Suspensi Virus IB (Kaufman, et al. 2017)**

Pembuatan suspensi virus IB dilakukan dengan cara menggerus organ hepar yang diambil dari ayam positive IB sebanyak 1 gr dengan perbandingan 1 gr PBS dan 5 gr air. Kemudian ditambahkan antibiotik PPG (*Procaine Penicillin-G*) sebanyak 0,01 gr dan Streptomi (*Streptomycin Sulfate Meiji*) 0,01 mg yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri dan jamur pada organ hepar. Suspensi organ tersebut dimasukkan ke tabung sentrifuge dan diinkubasi dalam inkubator 37°C selama 3 jam. Selanjutnya dimasukkan dalam freezer selama 24 jam.

- **Uji Antiviral Virus Corona IB**

Uji antiviral virus Corona IB menggunakan ekstrak Patikan Kebo dengan konsentrasi 0,01% (P1),

0,1% (P2) dan 1% (P3). Virus IB yang dimasukkan dalam freezer dithawing pada suhu ruang 370 C, kemudian TAB diberi perlakuan ekstrak Patikan Kebo dan suspensi Virus IB dengan masing-masing konsentrasi diinokulasikan ke dalam ruang alantois 0,1 ml. Sebagai kontrol positif, TAB diinokulasi virus IB tanpa perlakuan ekstrak. Sedangkan kontrol negatif, TAB diinjeksikan ekstrak Patikan Kebo tanpa virus dengan konsentrasi paling tertinggi dan tidak toksik dengan masing-masing perlakuan ada lima ulangan. Kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 3x24 jam.

- **Prosedur Pengumpulan Data dan Analisis Data**

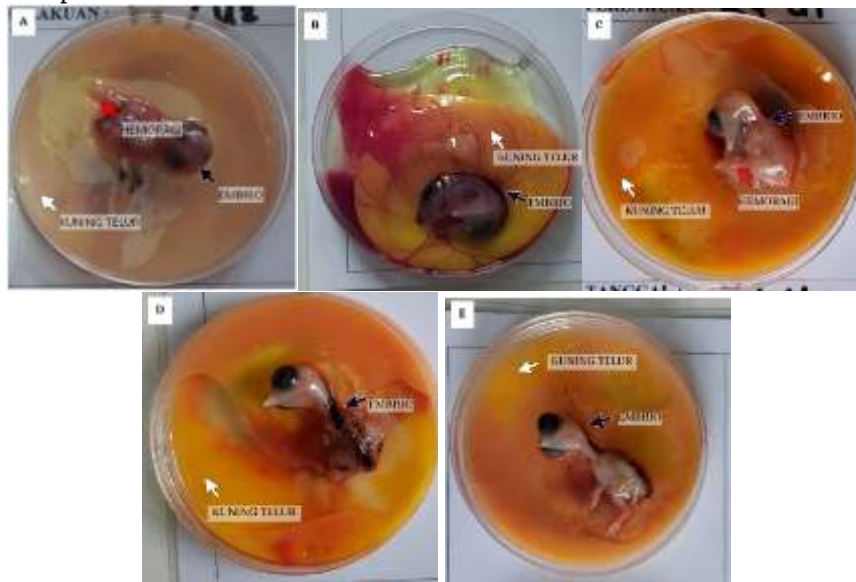
Pengumpulan data berdasarkan hasil embrio ayam yang telah diinkubasi 3 x 24 jam dikeluarkan dari cangkang dan diletakan di cawan petri kemudian embrio

diamati lesi makroskopisnya dan berat embrio ayam. Hasil dari pengukuran berat badan embrio ayam dikumpulkan dan dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA dan *independent sample T-test* menggunakan program dengan program SPSS for windows versi 23.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lesi Makroskopis Embrio Ayam

Penentuan antiviral dari suatu senyawa dapat ditentukan dengan pengamatan lesi makroskopis. Lesi makroskopis merupakan pengamatan yang dilakukan untuk mendeteksi efek antiviral yang dari suatu senyawa mendapatkan data dosis atau respon yang khas. Hasil uji lesi makroskopis dapat digunakan untuk membuktikan embrio terjadi perubahan embrio setelah diberi perlakuan. Hasil lesi makroskopis dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Gambaran hasil lesi makroskopis embrio ayam umur 11 hari yang diinokulasi ekstrak Patikan Kebo terhadap virus IB. (A) K+. (B) K-. (C) P1. (D) P2 dan (E) P3

Hasil lesi makroskopis menunjukkan pada embrio ayam umur 11 hari perlakuan P2 yaitu Patikan Kebo dengan dosis 0,1% tidak terjadi hemoragi pada kulit embrio

dibandingkan perlakuan yang lain. Pengukuran lesi makroskopis pada telur ayam berembrio umur 9-11 hari yang terinfeksi virus IB dapat dilihat terjadi perubahan pada embrio terjadi hemoragi

di seluruh bagian tubuh, terlihat kerdil, dan mengalami kerontokan bulu pada embrio (Cavanagh and Gelb, 2008). Hal ini menunjukan perlakuan P2 pada dosis 0,1% memiliki potensi antiviral yang paling baik dibanding dengan kelompok lainnya. Ekstrak Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) memiliki kandungan Bioaktif *fenol* dan *Saponin* memiliki sifat antiviral. Bioaktif fenol dan Saponin dapat mengaktivitas antiviral virus Infectious Bronchitis (IB) yang menyerang saluran pernafasan. Kandungan zat bioaktif yang termasuk *Fenol* yang terdapat di ekstrak Patikan Kebo adalah *lavonoid*, *Tanin*, *lavanoid* (terutama *quarcitrin* dan *myricitrin*) dan *Saponin* yang dapat merusak lipid amplop virus (Kopjar et al, 2014). Hemaglutinin adalah protein di amplop bagian permukaan virus yang bisa menghemaglutinasi eritrosit, sehingga kerusakan pada struktur permukaan virus menyebabkan tidak terjadi replikasi. Embrio pada perlakuan virus *Infectious Bronchitis* (IB) dengan ekstrak Patikan Kebo dengan konsentrasi P1 0,01% menunjuk embrio berwarna merah tua dan berisi darah pada jaringan subkutan pada embrio dibandingkan kontrol negatif embrio tampak normal. Hal ini menunjukan embrio pada perlakuan P1 0,01% dan P3 1% aktivitas antiviral tidak terlalu berpengaruh terhadap virus (IB). Pengukuran lesi makrokopis IB pada penelitian menunjukan embrio ayam

yang terinfeksi oleh virus IB mengalami edema pada bagian abdomen, hemoragi pada kulit dan kongesti (Etteradossi and Saif, 2008).

Zat bioaktif termasuk fenol adalah *Flavonoid*, *Melanin*, *Tanin*, *Lignin*, *Kurkumin*, *Fenil propanoid*, *Fenol Monosiklik*, *Kuinon fenolik*, *katesin*, asam galat, dan asam kafeat termasuk asam karbolat yang bersifat asam lemah dan dapat mengkoagulasikan protein (Fiandri, 2020). Zat bioaktif fenol dan saponin menghambat virus. Kandungan zat bioaktif fenol pada ekstrak Patikan Kebo dilaporkan komponen kimia tumbuhan yang memiliki kemampuan mengkoagulasikan protein dan merusak dinding sel virus, sehingga lesi makrokopis embrio tidak terjadi hemoragi, kaki keriting, kekerdilan dan perontokan bulu pada embrio. Sedangkan Najib dan Ahmad (2020) melaporkan senyawa fenol mempunyai sifat efektif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, jamur, dan virus.

Rerataan Berat Embrio Ayam

Berdasarkan analisis dan uji virus (IB) menunjukan rerata berat embrio ayam dari TAB yang diinokulasi virus *Infectious Bronchitis* (IB) dengan ekstrak Patikan Kebo variasi konsentrasi 1 %, 0,1 %, 0,01 % dan kontrol dapat dilihat pada tabel berikut.

Table 1. Persentase embrio hidup dan bobot embrio yang diinokulasi dengan ekstrak Patikan Kebo terhadap virus IB

Perlakuan	Embrio hidup (%)	Bobot embrio hidup (g)
P1	40	3,97±0,63
P2	80	4,58±0,65*
P3	60	4,02±0,54
K-	80	4,60±0,86
K+	20	3,4 ±0,45

Catatan: Tanda bintang (*) menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0,05$)

Dari hasil analisis menggunakan *independent sample T-test* didapatkan bahwa rerata berat embrio ayam yang diinokulasi virus *Infectious Bronchitis* (IB) dengan ekstrak Patikan Kebo menggunakan variasi konsentrasi 1 %, 0,1 %, 0,01 % menunjukkan rata-rata setiap perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0,05$). Hasil Uji menunjukan perlakuan P2 yaitu Patikan Kebo dengan dosis 0,1% memiliki sifat antiviral yang paling bagus dengan rerata presentasi embrio hidup paling tertinggi yaitu 80% dan berat badan embrio 4,58 gram $\pm$ 0,65 gram dibandingkan perlakuan lainnya. Embrio ayam yang terinfeksi virus (IB) menurut Waluyo (2022) akan mengalami kekerdilan dengan kaki keriting, terjadi penurunan berat badan dan akan mengalami kematian hingga 60%. Hal ini menunjukan pemberian ekstrak Patikan Kebo terhadap virus *Infectious Bronchitis* (IB) melalui telur ayam berembrio dapat menghambat virus. Zat bioaktif pada tanaman (*Euphorbia hirta* L) diduga memiliki banyak peran terhadap berat embrio ayam yang diuji virus (IB). Senyawa kimia ini yang terdapat didalam Patikan Kebo

dapat mengobati berbagai macam penyakit. Senyawa-senyawa tersebut bersifat Antiseptik, anti-inflamasi, Antifungi, Antiviral dan Antibakteri yang dapat mengaktivitas antiviral terhadap virus (IB), sehingga embrio ayam tidak terjadi kekerdilan dan penurunan berat embrio yang diakibatkan infeksi virus (IB). Kurniawan dan Aryayana (2015) melaporkan bahwa *Flavonoid* merupakan zat bioaktif terdapat pada fenol yang dapat antiinflamasi, antibakteri, analgesik, antivirus, dan anti-oksidan. *Flavonoid* adalah golongan terbesar berasal senyawa fenol, senyawa fenol memiliki sifat efektif merusak pertumbuhan virus, bakteri, dan fungi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak patikan kebo mempunyai potensi antiviral herbal terhadap virus *Infectious Bronchitis* (IB) secara *in ovo*.

Saran

Perlu dilakukan uji lanjutan potensi aktivitas antiviral Patikan Kebo terhadap virus corona (IB) secara *in vivo* pada unggas.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhmad dan Tri. 2017. Pengaruh Kombinasi Herbal Meniran Dan Temu Giring Terhadap Titer Antibodi Ayam Petelur Yang Divaksin Avian Influenza Virus Berdasarkan Uji Hemaglutinasi Inhibisi. *Skripsi*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Al-Snafi, A. E. (2017). Pharmacology and therapeutic potential of *Euphorbia hirta* (Syn: *Euphorbia pilulifera*)-A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 7(3), 7-20.
- Amal, M, H. (2018). Effect of in Ovo injection with Nano- Selenium or Nano- Zinc on Post Hatch Growth Performance and Physiological Traits of Broiler Chicks. *resp International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)* 3(2):350-357.
- April. 2001. Pengaruh Pemberian Sediaan Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) Terhadap Jumlah Eritrosit, Kadar Hemoglobin, Dan Nilai Hematokrit Pada Ayam Yang Diinfeksi. Vol. 6 No. 2 Th. 2001.
- Cao Z., Zongxi H., Yuhao S., Xiaoli L., Junfeng S., Demin Y., Xiangang K., & Shengwang L. (2012). Proteomics Analysis of Differentially Expressed Proteins in Chicken Trachea and Kidney After Infection with the Highly Virulent and Attenuated Coronavirus Infectious Bronchitis Virus in Vivo. *Proteomo Science*, 24(10), 1-19.
- Cavanagh and Gelb. (2008) Infectious Bronchitis In: Disease of Poultry. Saif, Y.M. Blackwell Publishing. Iowa.
- Coni dan Gerson (2018) Virus New Castle Diseases (ND) ayam broiler.
- Fiandri, D. C. (2020). Potensi Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Penyembuh Luka. *Jurnal Medika Hutama*, 2(01 Oktober), 224-230.
- Dharmayanti N.L.P.I., & Risa I. (2017). Identification and Characterization of Infectious Bronchitis Virus (IBV) in Indonesia (Identifikasi dan Karakterisasi Virus Infectious Bronchitis (IBV) di Indonesia). *Jurnal Biologi Indonesia*, 13(1), 53-59.
- Djauhariya E dan Hermani. 2004. Gulma Berkhasiat Obat. Seri Agrisehat. Penebar Swadaya, Jakarta
- Eterradossi and Saif YM. 2008. Infectious Bursal Disease. In: Syaif YM, Fadly AM, Glysson JR, Mc. Dougald LB, Nolan LK, and Swyne DE. Disease of Poultry, 12th Edition. Blackwell Publishing, Iowa. p185-208.
- Fiandri, D. C. (2020). Potensi Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Penyembuh Luka. *Jurnal Medika Hutama*, 2(01 Oktober), 224-230.
- Handa S.S., Khanuja, S.P.S., Longo G., and Rakesh D.D., 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *Trieste: International Centre for Sciences and High Technology*. pp. 22-25
- Kaufmann, L., Syedbasha, M., Vogt, D., Hollenstein, Y., Hartmann, J., Linnik, J. E., & Egli, A. (2017). An Optimized Hemagglutination Inhibition (HI) Assay to Quantify Influenza-specific Antibody Titers. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (130), 55833. <https://doi.org/10.3791/55833>
- Kopjar, M., Orsolic, M. and Pilizota, V. (2014). Anthocyanins, phenols, and antioxidant activity of sour cherry puree extracts and their stability during storage. *International Journal of Food Properties* 17(6): 1393–1405

- Kurniawan, B., & Aryana, W. F. (2015). Binahong (Cassia Alata L) as inhibitor of escherichiacoli growth. *Jurnal Majority*, 4(4).
- Mabrur, Mabrur & Santoso, Heri & Agustia,. (2016). Isolasi dan Deteksi Virus Avian Influenza sub tipe H5N1 dengan Teknik Inokulasi Telur Ayam Berembrio.
- Najib, S. Z., & Ahmad, R. (2020). Pharmacological Activities Of Euphorbia Hirta. *Infokes*, 10(2), 328-333.
- Pasaribu, T. (2019). Peluang zat bioaktif tanaman sebagai alternatif imbuhan pakan antibiotik pada ayam. *Jurnal Litbang Pertanian Vol*, 38(2), 96-104.
- Puspitasari, M., Royani, M., & Purnama, I. (2022, February). Penggunaan Tepung Patikan Kebo (Euphorbia Hirta L) Dalam Ransum Ayam Sentul Fase Starter. In *Prosiding Seminar Nasional* (pp. 219-227).
- Waluyo, D. S. T. (2022). *Penyakit Unggas*. Media Nusa Creative (MNC Publishing).