

## Analisis Pemberian Serbuk Jahe Merah, Kunyit, dan Temulawak dengan Metode *In Silico* dan *In Vivo* pada Ayam Broiler

### *Analysis of giving red ginger, turmeric, and temulawak powder with In Silico & In Vivo methods on broiler chickens*

Herawati<sup>1\*</sup>, Renanda Nur Al Jabbar<sup>2</sup>, Yudit Oktanella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

<sup>2</sup>Program Studi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

\*Email: herawati\_5858@yahoo.com

Diterima : 7 Juli 2022, direvisi : 6 Februari 2023, disetujui : 16 Februari 2023

#### Abstract

The need for broiler chickens is increasing along with the increase in human population. Broiler chicken productivity depends on a healthy digestive tract. Data from the Central Bureau of Statistics in 2015-2016 showed a significant decline in broiler production in the Banten region of 13,539,097 tons or the equivalent of 18.07%. This study aimed to evaluate effect of combination powder of red ginger (*Zingiber officinale Rubrum*), turmeric (*Curcuma domestica*), and temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) on the calculation of normal Liberkhun crypts using the *In Silico* and *In Vivo* methods. Molecular docking was performed at Interferon Lambda Receptor (IFN- $\lambda$ R) pocket site to modulate anti-inflammatory activity in the chicken cecum. The study used 20 chickens which were randomly collected into 5 treatment groups: negative control without treatment (P0) and powder addition group {0.5% (P1); 1%(P2); 1.5%(P3); 2%(P4)}. All chickens were reared for 35 days, then the chickens were euthanized, the cecum were taken for histopathological observation. With *In Silico* method all active substances in red ginger (gingerol, shogaol); turmeric (curcumin, tetrahydrocurcumin); and temulawak (demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin) can bind to IFN- $\lambda$ R. Curcumin (-6.0 kcal/mol) has the highest affinity value. Confirmation test showed a significant effect ( $p < 0.05$ ) on the normal Liberkhun crypts count due to tissue damage. Tukey's test confirmed that the negative group was significantly different from P2, P3, and P4 with a mean ( $4.35 \pm 1.09b$ ;  $5.6 \pm 1.54c$ ; and  $5.7 \pm 1.78c$ ). This study showed that the addition of 1.5% has the potential to be used as anti-inflammatory agent which was confirmed by *In Silico* method. Addition of combination powders has a positive effect reducing Liberkhuna's crypts damage by antiinflammatory mechanism.

**Key words:** affinity; IFN- $\lambda$ R; inflammatory; *In Silico*; *In Vivo*

#### Abstrak

Kebutuhan ayam pedaging bertambah seiring dengan penambahan populasi manusia. Produktivitas ayam broiler bergantung pada saluran pencernaan yang sehat. Data Badan Pusat statistik pada tahun 2015-2016 pernah terjadi penurunan produksi ayam ras pedaging yang signifikan di wilayah Banten sebesar 13.539.097 ton atau setara dengan 18,07%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penambahan kombinasi serbuk jahe merah (*Zingiber officinale Rubrum*), kunyit (*Curcuma domestica*), dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap perhitungan jumlah kripte *Liberkhun* normal melalui metode *In Silico* dan *In Vivo*. *Molecular docking* dilakukan di *pocket site* Interferon Lambda Reseptor (IFN- $\lambda$ R) untuk memodulasi aktivitas anti-inflamasi pada sekum ayam. Penelitian menggunakan 20 ekor ayam yang dikelompokkan secara acak kedalam 5 kelompok perlakuan: kontrol negatif tanpa perlakuan (P0) dan kelompok penambahan serbuk {0,5% (P1); 1%(P2); 1,5%(P3); 2%(P4)}. Semua ayam dipelihara selama 35 hari kemudian ayam dieutanasi kemudian organ sekum diambil untuk pengamatan histopatologi. Secara *In Silico* semua zat aktif pada jahe merah (*gingerol*, *shogaol*); kunyit (*curcumin*, *tetrahydrocurcumin*); dan temulawak (*demetoksicurcumin*,

*bisdemetoksicurcumin*) dapat berikatan dengan IFN- $\lambda$ R. *Curcumin* (-6,0 kkal/mol) memiliki nilai afinitas tertinggi. Uji konfirmasi menunjukkan pengaruh secara nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap perhitungan kripte *Liberkhun* normal akibat kerusakan jaringan. Uji Tukey mengkonfirmasi bahwa kelompok negatif berbeda signifikan dengan P2, P3, dan P4 dengan rerata ( $4,35 \pm 1,09^b$ ;  $5,6 \pm 1,54^c$ ; dan  $5,7 \pm 1,78^c$ ). Penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan serbuk kombinasi sebesar 1,5% berpotensi digunakan sebagai agen anti inflamasi yang dikonfirmasi dengan metode *In Silico*. Penambahan kombinasi serbuk herbal memberikan efek positif dalam mengurangi kerusakan kripte *Liberkhun* dengan mekanisme anti-inflamasi.

**Kata kunci:** afinitas; IFN- $\lambda$ R; inflamasi; *In Silico*; *In Vivo*

## Pendahuluan

Ayam pedaging merupakan komoditas yang penting dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani dengan harga terjangkau di masyarakat. Jumlah penduduk yang semakin meningkat berbanding lurus terhadap peningkatan kebutuhan ayam pedaging. Berdasarkan data statistik terjadi peningkatan produktivitas ayam pedaging yang pesat sebesar 66,67% dari yang sebelumnya 1.905.497 ton menjadi 3.175.853 ton pada 2017 sementara pada 2018 terjadi peningkatan sebesar 7,36 %. Kebutuhan ayam pedaging diprediksi akan semakin meningkat seiring dengan kebutuhan pangan masyarakat (BPS, 2019). Meskipun demikian, menurut Badan Pusat statistik pada tahun 2015-2016 pernah terjadi penurunan produksi ayam ras pedaging yang signifikan di wilayah Banten sebesar 13.539.097 ton atau setara dengan 18,07%, penurunan ini juga terjadi pada tahun 2012-2013 di provinsi Kalimantan Barat sebesar 9.421.886 ton atau sekitar 42,88%. Salah satu faktor penyebab terjadinya penurunan produktivitas ayam pedaging yakni munculnya gangguan pada saluran pencernaan (Sahara *et al.*, 2019).

Kerusakan jaringan menjadi salah satu faktor dalam gangguan saluran pencernaan. Sekum adalah saluran pencernaan yang berfungsi dalam proses penyerapan air, fermentasi, dan pembusukan sisa makanan. Organ ini rentan mengalami kerusakan akibat infeksi bakteri patogen karena terdapat mikroflora normal yang lebih banyak. Gangguan keseimbangan mikroflora normal dapat menyebabkan peningkatan mikroflora patogen. Peningkatan kadar bakteri patogen akan memunculkan kerusakan pada saluran pencernaan (Mufadhila, 2017).

Kerusakan pada saluran pencernaan ayam dapat menyebabkan adanya inflamasi. Inflamasi adalah suatu respons protektif tubuh terhadap

cedera jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan kimia, atau agen mikrobiologi. Proses ini merupakan usaha tubuh untuk menghancurkan organisme penginfeksi dan menghilangkan iritasi (Hilmiyanti, 2018). Respons radang didahului dengan peningkatan aliran darah, suhu, timbulnya warna kemerahan, pembengkakan jaringan lokal, dan nyeri (Dewi, 2010).

Proses inflamasi melibatkan banyak sitokin proinflamasi seperti IL-1b, IL-6, IL-8, dan TNF- $\alpha$ . Sitokin IL-8 memiliki peranan dalam rekrutmen heterofil. Heterofil merupakan komponen pertama dalam proses inflamasi. Heterofil mencari, memakan, dan membunuh agen infeksius sebagai garis pertahanan tubuh pertama terutama terhadap bakteri (Suryani *et al.*, 2014). Heterofil ketika teraktivasi akan memproduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), tetapi zat ini dapat menyebabkan stres oksidatif apabila diproduksi melebihi kemampuan antioksidan seluler. ROS diproduksi secara enzimatis dan nonenzimatis oleh sel-sel vaskuler fagositik (neutrofil, monosit, makrofag) dan nonfagositik seperti endotel, dan fibroblas. Sel-sel fagositik inflamatorik seperti heterofil dan makrofag, bila teraktivasi akan memproduksi ROS dalam jumlah besar. Produksi ROS yang masif pada lingkungan inflamatorik ini (disebut *oxidative burst*) berperan penting sebagai mekanisme pertahanan pertama terhadap patogen lingkungan (Susilawati, 2021). ROS adalah radikal bebas pengoksidasi turunan oksigen yang sangat reaktif, sehingga dapat menyebabkan kerusakan fungsi dan struktur sel. Kerusakan pada jaringan harus dikendalikan, karena respons peradangan yang terlalu lama akan menyebabkan kerusakan jaringan yang lebih parah hingga terjadinya *mucosal rupture* (Dewi, 2016).

Proses inflamasi dapat dikendalikan dengan melepaskan sitokin anti-inflamasi seperti *Interferon Lambda* (IFN- $\lambda$ ) yang secara alami diproduksi oleh sel yang mengalami kerusakan. Sitokin ini ketika berikatan dengan reseptornya (IFN- $\lambda$ R) akan memodulasi ekspresi *Interferon Stimulating Genes* (ISG) yang berakibat dalam penurunan rekrutmen dari heterofil. Ekspresi IFN- $\lambda$  yang menurun dapat mengakibatkan gangguan efektifitas dari kesembuhan luka (Dai et al., 2009). Kesembuhan luka dapat dimodulasi dengan ISG, sehingga dibutuhkan alternatif dalam upaya peningkatan ekspresi zat tersebut.

Alternatif alamiah menjadi pilihan dalam upaya mengefektifkan proses inflamasi dalam tubuh hewan. Masyarakat di Indonesia secara umum telah memanfaatkan obat herbal seperti jahe merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*), kunyit (*Curcuma domestica*), dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) yang dipercaya memiliki banyak khasiat diantaranya adalah anti-inflamasi (Fitriyah, 2012). Namun, mekanisme dari senyawa yang terkandung dalam kombinasi jahe merah, kunyit, dan temulawak sebagai anti-inflamasi melalui jalur modulasi IFN masih belum banyak dijelaskan dan dikorelasikan secara *In Vivo* melalui preparat histopatologi.

Metode *In Silico* adalah kajian penelitian dalam bidang biologi yang berbasis komputasi untuk menganalisis suatu metabolit sekunder yang bersifat aktif. Tahapan uji *In Silico* dimulai dengan memprediksi, memberi hipotesis, dalam rangka penemuan obat dengan biaya yang lebih terjangkau (Tiring et al., 2019). Metode ini dapat digunakan dalam melakukan prediksi mengenai potensi dan mekanisme kerja senyawa jahe merah, kunyit, serta temulawak sebagai anti-inflamasi secara *In Silico* (Arrasyid et al., 2020).

## Materi & Metode

### 1. *In Silico*

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi seperangkat komputer dengan spesifikasi *chip processor* AMD A9-7410 APU, 4 *Threads*@2.2GHz, 4.00 GB DDR4 2400MHz *random access memory*, 2GB DDR5 AMD Radeon R5 *graphics*, peralatan pemeliharaan ayam meliputi *brooder*, timbangan, seperangkat alat penyembelihan berupa pisau dengan

syarat (tajam, mata pisau tunggal, lurus, halus, memiliki panjang empat kali lebar leher unggas), tempat makan dan minum, alat pengukur suhu kelembaban (*hygrometer*), serta bahan preservatif (pengawetan) sampel organ setelah nekropsi.

Pengujian *In Silico* menggunakan perangkat lunak *AutoDock Vina*, *AutoDock Tools 1.5.6*, *Pymol*, *Biovia Discovery Studio*, reseptor IFN- $\lambda$ R ayam dari *database* UniProt ([www.uniprot.com](http://www.uniprot.com)) dengan kode UniProtKB-K9JA28, dan ligan *gingerol*, *shogaol*, *curcumin*, *tetrahydrocurcumin*, *demetoksicurcumin*, *bisdemetoksicurcumin* dari website *database PubChem* ([www.pubchem.com](http://www.pubchem.com)). Struktur reseptor yang akan digunakan adalah IFN- $\lambda$ R. Reseptor tersebut dapat diunduh melalui situs web UniProt dengan struktur formasi 3D. Preparasi dilakukan pada reseptor IFN- $\lambda$ R dengan melakukan penambahan hidrogen, pengilangan molekul air, penambahan muatan *gasteiger* dan eliminasi ligan non-standar menggunakan aplikasi *Autodock Tools 1.5.6*.

Ligan yang digunakan adalah zat aktif metabolit pada jahe merah, kunyit, dan temulawak berupa *6-gingerol*, *6-shogaol*, *curcumin*, *tetrahydrocurcumin*, *demtoksicurcumin*, *bisdemetoksicurcumin* dengan kode masing secara urut CID442793, CID5281794, CID969516, CID124072, CID5469424, dan CID5315472. Pengunduhan struktur molekul ligan dilakukan melalui situs web *PubChem* dengan memilih struktur 3D sdf. Struktur yang sudah terunduh kemudian diubah menjadi format protein data bank (.pdb) melalui aplikasi *Biovia Discovery Studio*.

Proses *molecular docking* dimulai ketika data struktur reseptor maupun ligan yang telah diunduh dari situs web UniProt dibuka menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio* untuk dilakukan penghapusan molekul reaidu/air dan ubahan format menjadi format .pdb. Ikatan hidrogen dan muatan Gasteiger pada ligan maupun reseptor ditambahkan menggunakan aplikasi *Autodock Tools*. Ligan dan reseptor yang telah disempurnakan tersebut selanjutnya disimpan dalam format (pdbqt). Reseptor yang sudah tersimpan dalam format (pdbqt) selanjutnya disimulasikan untuk berikatan dengan ligan secara otomatis menggunakan aplikasi *Vina*.

Proses docking dimulai menggunakan aplikasi AutoDock Vina dengan memilih menu grid untuk menentukan koordinat *docking* dan *Grid Box* (x,y,z). Koordinat pada *Grid Box* bertujuan untuk membatasi pergerakan ligan yang akan di pasang dengan reseptor, sehingga penting untuk menutup seluruh bagian reseptor pada grid box. Angka penambatan dan koordinat dicatat dalam *config* (seperangkat folder *docking*) dan disimpan untuk dapat dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

*CommandPrompt* kemudian digunakan untuk menjalankan sistem komputasi antara reseptor dan ligan untuk mengetahui tingkat afinitas yang dapat dicapai. Setelah masuk ke sistem *commandPrompt* selanjutnya jalankan aplikasi *Vina*. Ketika aplikasi *Vina* berjalan dimasukkan lokasi penyimpanan ligan dan reseptor terlebih dahulu, kemudian ketikkan perintah `-config conf.txt -log log.txt` dan tekan enter. Setelah selesai, nilai afinitas akan muncul secara otomatis. Penampilan model pengikatan ligan terhadap reseptor dilakukan menggunakan aplikasi *Pymol* dengan kombinasi aplikasi *Biovia Discovery Studio*.

## 2. *In Vivo*

Pengujian *In vivo* menggunakan hewan coba berupa ayam broiler berumur 1 hari (DOC) sebanyak 20 ekor. Ayam broiler yang digunakan merupakan strain *Cobb Slow Feather* dari PT. Malindo Feedmill Tbk. dan telah mendapat sertifikat laik etik dari komisi etik penelitian Universitas Brawijaya No: 072-KEP-UB 2020. Pada penelitian ini sebanyak 20 ekor ayam broiler dibagi menjadi lima kelompok yaitu, kelompok perlakuan (P1, P2, P3, dan P4) dan kelompok kontrol negatif (P0). Setiap kelompok terdiri atas empat ekor ayam pada setiap kandang perlakuan.

Kombinasi serbuk jahe merah, kunyit, dan temulawak ditambahkan kedalam pakan pabrikan ayam broiler mulai hari ke-1 hingga hari ke-35. Ayam diberikan makan dan minum secara terus menerus (*ad libitum*). Kelompok perlakuan P1, P2, P3, dan P4 masing-masing ditambahkan kombinasi serbuk herbal dengan dosis 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2%, untuk kelompok kontrol negatif hanya diberikan pakan pabrikan

8202 RED (P0). Pakan total yang digunakan adalah 64 kg selama 35 hari. Seluruh hewan yang digunakan tidak diberikan vaksinasi atau induksi penyakit apapun. Kandang yang digunakan berukuran 1 m<sup>2</sup> dilengkapi dengan lampu pemanas (*brooder*) 40 watt untuk setiap kelompok. Pakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ransum komersil jenis starter 8202 RED yang di produksi oleh PT. Malindo Feedmill Tbk dengan kandungan protein 22%, air 13%, lemak 4%, dan serat 5%. Lingkungan kandang diatur pada suhu ruang (24°C), dengan rata-rata kelembaban 70%. Seluruh ayam yang dipelihara tidak ada yang mati hingga hari ke-35. Setelah dilakukan pemeliharaan secara intensif kemudian ayam dieuthanasia menggunakan penyembelihan halal untuk diambil sampel organ sekum.

Sekum dipotong sepanjang 5cm di bagian sepertiga akhir organ, lalu dibersihkan dari kotoran dengan menggunakan NaCl fisiologis, kemudian masukkan ke dalam pot organ yang sudah diisi menggunakan formalin 10% sebagai agen fiksasi. Proses pembuatan preparat histopatologi melalui tahap fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, *blocking*, *sectioning*, dan pewarnaan (Putri *et al.*, 2019). Proses pewarnaan dilakukan dengan mencelupkan preparat kedalam zat warna *Hematoxylen Eosin*. Pengamatan dilakukan terhadap preparat histopatologi sekum ayam broiler sebanyak 5 lapang pandang masing-masing dengan perbesaran 100x dan 400x untuk perhitungan jumlah *kripte Liberkhun* normal.

Data *In Silico* dianalisis secara deskriptif melalui nilai afinitas dan residu asam amino yang muncul. Preparat HE pada organ sekum diamati, kemudian dihitung jumlah bentuk *kripte Liberkhun* yang masih menempel pada membran basalis mukosa sekum. Data tersebut kemudian diolah untuk uji normalitas dan homogenitas, selanjutnya dianalisis secara statistika menggunakan metode *One Way ANOVA* dengan nilai  $p < 0.05$  menggunakan bantuan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) untuk mengetahui adanya perbedaan pada kelompok perlakuan. Data tersebut apabila memenuhi syarat adanya perbedaan nyata, maka dilakukan uji *Tukey*  $\alpha = 5\%$ .

## Hasil dan Pembahasan

### Pengujian *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS)

Zat aktif yang dipakai sebagai kandidat didasarkan pada penelitian-penelitian sebelumnya mengenai aktivitas anti-inflamasi pada herbal jahe merah, kunyit, dan temulawak. Zat aktif yang terkandung di dalam kombinasi serbuk jahe merah, kunyit, dan temulawak diketahui dengan melakukan pemeriksaan menggunakan metode *Liquid Chromatography Mass-Spectrometry* (LC-MS) berdasarkan berat jenis melalui metode spektrum gelombang zat aktif tersebut. Metode determinasi yang dilakukan adalah *Selected Reaction Monitoring* (SRM). SRM adalah metode yang dipakai dalam spektrometri, dimana suatu zat aktif diketahui berdasarkan penggunaan rentang massa tertentu dengan sensitivitas dan selektivitas yang tinggi (Gallien. et al,2011). Massa suatu zat aktif dapat diketahui melalui referensi penelitian dan database yang terdapat pada website *PubChem*.

Berdasarkan hasil uji LCMS diketahui bahwa serbuk jahe merah mengandung zat aktif berupa *gingerol* dan *shogaol*, kunyit mengandung *curcumin* dan *tetrahydrocurcumin*, serta temulawak mengandung *bisdemetoksicurcumin* dan *demetoksicurcumin* yang secara berurutan memiliki berat jenis 294.4 g/mol, 276.4 g/mol, 368.4 g/mol, 308.3 g/mol, 338.4 g/mol, 372.4 g/mol.

### Kandidat ligan uji & Penentuan sisi aktif (*pocket site*) IFN- $\lambda$ R

Selanjutnya ligan dapat diunduh melalui website *PubChem*. senyawa aktif tersebut ke-

mudian dimasukkan kedalam tabel kandidat ligan sebelum dilakukuan *molecular docking*. Simulasi *In Silico* dapat dilakukan apabila kandidat ligan memenuhi persyaratan *Rule of Five* (RO5) sesuai aturan Lipinski. Aturan tersebut memuat suatu ligan dengan donor ikatan hidrogen  $\leq 5$ , akseptor ikatan hidrogen  $\leq 10$ , nilai *Log P*  $\leq 5$ , dan berat jenis suatu zat aktif tidak lebih dari 500 g/mol layak digunakan sebagai kandidat senyawa obat (Walters, 2012).

Berdasarkan data di atas dapat dilihat bahwa zat aktif yang digunakan sebagai kandidat ligan keseluruhan tidak ada yang berat jenisnya melebihi 500 g/mol, *Log P* keseluruhan berada di level  $\leq 5$ , jumlah akseptor ikatan hidrogen  $\leq 10$ , dan donor ikatan hidrogen semuanya  $\leq 5$ . Aturan Lipinski merupakan aturan dasar dalam penentuan kandidat ligan yang secara umum diberikan secara oral (Walters, 2012). Berat molekul apabila melebihi 500 g/mol menandakan ligan tidak dapat memasuki membran sel melalui pola difusi. Nilai koefisien *Log P* yang melebihi 5 dapat diartikan bahwa obat akan cenderung bersifat toksik karena ligan akan lebih lama menempel pada lapisan *lipid bilayer*, tetapi apabila koefisien *Log P* negatif maka juga tidak efektif karena ligan tidak dapat masuk ke membrane sel (Kilo et al., 2019). Seluruh kandidat hasil uji diketahui memiliki *Log P* < 5 sehingga tidak bersifat toksik pada tubuh ayam. Donor hidrogen adalah ion atau molekul yang dapat memberi pasangan elektron bebas. Sedangkan akseptor adalah ion penerima pasangan elektron bebas. Jumlah donor maupun akseptor ikatan hidrogen merupakan gambaran kebutuhan energi yang dibutuhkan oleh

**Tabel 1.** Kandidat Ligan Uji dan & *pocket site* IFN $\lambda$ R

Nama Zat Aktif	Log P	Berat Molekul (g/mol)	Akseptor Hidrogen	Donor Hidrogen	IFN $\lambda$ R Asam Amino <i>Pocket Site (Primary)</i>
6-gingerol	2.5	294.4	4	2	LEU32, MET39, VAL57, ARG58, TYR59, GLU60,
6-shogaol	3.7	276.4	1	3	SER61, LYS67, VAL71, ASN83,
Curcumin	3.2	368.4	6	2	LEU84, THR85,
Tetrahydrocurcumin	2.8	372.4	6	2	CYS86, VAL87, ASN90, PHE91, LYS94, PHE95,
Demetoksicurcumin	3.3	338.4	5	2	ARG96, ALA97, GLN98,
Bisdemetoksicurcumin	3.3	308.3	4	2	SER113, PHE115, GLU117

suatu ligan dalam proses absorpsi (Sugiyono, 2004). Aturan Lipinski merupakan gambaran mengenai solubilitas ligan terhadap membrane sel melalui difusi pasif (Kilo *et al.*, 2019).

Target reseptor *molecular docking* dalam penelitian ini menggunakan IFN $\lambda$ R. Reseptor ini termasuk golongan reseptor tyrosin kinase yang terletak dipermukaan sel terutama heterofil (Syedbasha dan Egli, 2017). Reseptor yang digunakan adalah reseptor yang spesifik terdapat pada ayam (chIFN $\lambda$ R) yang diunduh melalui database UniProt (K9JA28). Berdasarkan data dari UniProt diketahui memiliki dua rantai utama (A&B) yang tersusun dari 567 asam amino. Ligan dapat berikatan melalui sisi aktif dari reseptor yang ditargetkan. Reseptor IFN $\lambda$ R harus diketahui *pocket site* sebagai sisi aktif dari suatu reseptor. Deteksi *pocket site* pada reseptor dapat dilakukan dengan beberapa cara salah satunya melalui website *plasmolecule.com/deepsite*. Rantai A merupakan bagian yang digunakan dalam proses *molecular docking* karena merupakan lokasi *pocket site*. Sementara rantai B merupakan tempat perlekatan ligan asli IFN $\lambda$  dengan reseptor pada asam amino Tyr343, Tyr406, and Tyr517 (Hamming *et al.*, 2010). Berdasarkan data dari website tersebut diketahui terdapat 3 *pocket site* pada reseptor IFN $\lambda$ R dengan satu lokasi sama yang dipaparkan dalam Tabel 1.

### Hasil *molecular docking*

Data hasil *molecular docking* diambil berdasarkan pengujian nilai afinitas maupun

RMSD, selanjutnya data dianalisa secara deskriptif melalui perbandingan antar setiap ligan uji. Nilai afinitas dapat dilihat pada **Tabel 2.** dibawah ini :

Data hasil *molecular docking* diambil berdasarkan pengujian nilai afinitas maupun RMSD, selanjutnya data dianalisa secara deskriptif melalui perbandingan antar setiap ligan uji. Nilai afinitas dapat dilihat pada Tabel 2. Zat aktif dari kombinasi jahe merah, kunyit, dan temulawak secara keseluruhan dapat berikatan dengan reseptor IFN- $\lambda$ R. Data tersebut menunjukkan bahwa pengujian terhadap zat aktif *gingerol-6*, *shogaol-6*, *curcumin*, *demetoksicurcumin*, *tetrahidrocurcumin*, & *bisdemetoksicurcumin* memeperlihatkan adanya perbedaan nilai afinitas. Nilai afinitas terbesar dimiliki oleh *curcumin* dengan -6,0 kkal/mol, sementara nilai afinitas terkecil dimiliki oleh *shogaol-6* dengan nilai -4,0 kkal/mol. Nilai afinitas merupakan besaran energi yang dibutuhkan suatu zat aktif untuk saling berikatan dengan sebuah molekul. Semakin negatif afinitas maka ikatan tersebut semakin kuat dan stabil (Adnyani *et al.*, 2019). Hal ini didukung oleh Azis (2016), semakin tinggi nilai *binding energy*, maka afinitas antara reseptor dengan ligan akan semakin rendah. Namun sebaliknya, semakin rendah (negatif) nilai *binding energy* maka afinitas antara reseptor dengan ligan akan semakin besar.

Nilai RMSD dari enam zat aktif, hanya dua yang memiliki nilai diatas 2 Å yaitu *gingerol-6* dan *demetoksicurcumin*. Skor RMSD > 2 Å menunjukkan bahwa terdapat penyimpangan

**Tabel 2.** Ikatan terbentuk, residu asam amino, nilai afinitas & RMSD hasil *molecular docking*

Ligan	Ikatan Hidrogen	Ikatan P-Alkyl/Alkyl	Ikatan Van Der Walls	Residu asam amino terdekat	Nilai Afinitas ( $\Delta G$ ) (kkal/mol)	RMSD (Å)
Gingerol-6	HIS207, LEU124	LYS206, GLU123	-	LEU120, LYS209, SER208, VAL122	-4,5	2,134
Shogaol-6	LEU120	LEU32	-	GLN114, SER113, ASP121, PHE115, LYS116	-4,0	1,921
Curcumin	LEU32	LYS206	HIS119, VAL30	THR31, LEU33, SER34, VAL122, ILE200, SER208, HIS207, LEU124, GLU123, LEU120, ASP121, GLN114, PHE115, SER113	-6,0	1,885
Demetoksi curcumin	SER34	LEU32	THR31	SER113, GLN114, PHE115, ASP121, LEU120, GLU123, LEU33, LYS35, ASN29	-4,5	1,550
Tetrahidro Curcumin	-	LYS209, LYS206, LEU120	SER208	GLU123, LEU124, HIS207, VAL122, HIS119, GLU151, ILE200, PHE205	-4,8	2,405
Bisdemetoksi curcumin	HIS119	LYS206	-	ASP204, GLU151, VAL122, LEU124, HIS207, LEU120, PHE205	-5,3	1,516



ikatan *Van der Walls* pada THR31, dan ikatan *Alkyl* yang berikatan pada asam amino target pada reseptor yaitu LEU32. *Tetrahydrocurcumin* hanya membentuk dua ikatan yaitu ikatan *alkyl* yang terdiri dari LEU120, LYS206, LYS209 dan ikatan *Van der Walls* dengan SER208. *Bis-demetoksicurcumin* membentuk dua ikatan ketika ditambahkan pada sisi aktif dari reseptor, yakni terbentuk ikatan hidrogen dengan HIS119 dan ikatan *alkyl* dengan LYS206.

Hampir keseluruhan asam amino yang ada di sekitar sisi aktif bersifat hidrofobik. Asam amino LEU merupakan salah satu jenis yang bersifat non polar hidrofobik pada bagian interior reseptor (*pocket site*). Interaksi ini berperan untuk menentukan perlekatan yang stabil antara ligan dan reseptor. Terbentuknya ikatan ini meminimalisir interaksi residu dengan molekul air yang berkelompok dengan kecenderungan mengganggu aktivitas perlekatan ligan terhadap reseptor (Arwansyah *et al.*, 2014). Ikatan hidrogen dapat digunakan sebagai penentuan daerah permukaan polar suatu ligan yang berguna dalam metode transportasi obat. Daerah permukaan polar nantinya akan berpengaruh terhadap bioavailabilitas suatu ligan (Kilo *et al.*, 2019).

Bioavailabilitas adalah distribusi suatu zat aktif pada jaringan target setelah pemberiannya secara oral. Penentuan faktor ini diperhatikan karena dapat menjadi parameter dalam penggunaan ligan uji sebagai agen terapi. Semakin tinggi bioavailabilitas maka semakin efektif penyerapan suatu ligan terhadap reseptornya. Ikatan hidrogen yang terbentuk memiliki pengaruh terhadap indikasi penggunaan obat yang baik menurut aturan Lipinski (RO5), semakin banyak ikatan hidrogen terbentuk pada protein target menandakan ikatan yang terbentuk kuat dan memunculkan efek pada aktivitas suatu reseptor (Rachmania *et al.*, 2015).

Zat aktif *shogaol-6*, *curcumin*, dan *demetoksicurcumin* menunjukkan karakteristik ikatan yang paling kuat dengan perhitungan yang lebih akurat. Ketiga ligan berpotensi membentuk ikatan pada IFN $\lambda$ R. Hal ini tercermin pada ikatan yang terbentuk pada sisi aktif IFN $\lambda$ R yakni asam amino LEU32. LEU32 pada hasil *molecular docking* dengan *shogaol-6* dan *demetoksicurcumin* membentuk ikatan P-*Alkyl*,

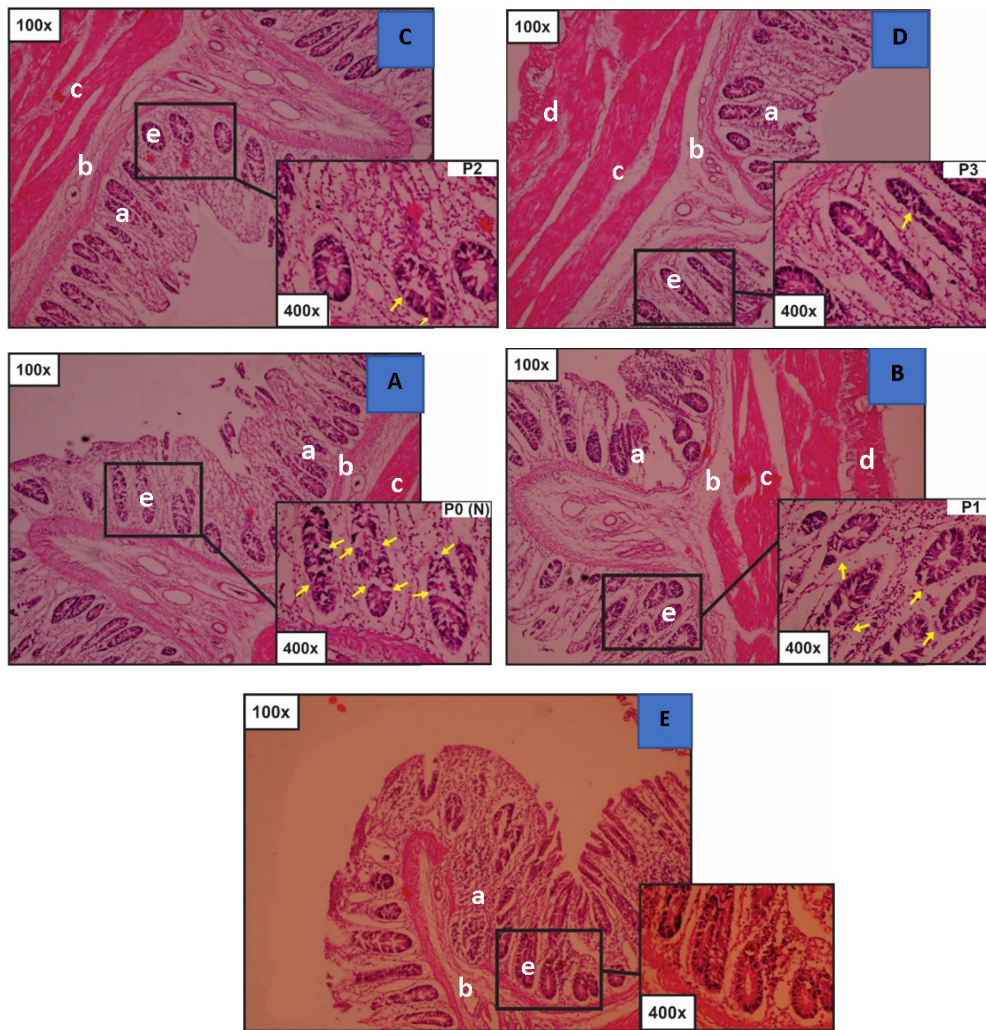
sementara pada *curcumin* LEU32 membentuk ikatan hidrogen. Tetapi hanya *curcumin* paling mudah berikatan pada reseptor IFN $\lambda$ R dibandingkan dengan zat aktif lain yang ditinjau dari nilai afinitas terkecil dan RMSD yang terkonfirmasi dibawah 2 Å. Dari data-data tersebut kemudian dapat disimpulkan bahwa kandidat terkuat untuk berikatan terhadap IFN $\lambda$ R adalah *curcumin* dengan nilai afinitas -6,0 kkal/mol, didukung dengan terbentuknya tiga jenis ikatan yaitu ikatan hidrogen, P-*alkyl*, dan *Van der Walls* dimana ikatan hidrogen bertautan langsung dengan asam amino target yang terdapat pada reseptor IFN $\lambda$ R yaitu LEU32.

### Histopatologi Sekum

Pengamatan jumlah perhitungan *kripte Liberkhun* pada mukosa sekum menggunakan mikroskop perbesaran 400x. Data hasil perhitungan *kripte Liberkhun* secara normal kemudian di analisis menggunakan metode statistika. Potensi penambahan kombinasi serbuk herbal akan menunjukkan hasil positif apabila pada kelompok perlakuan, kerusakan yang terjadi pada epitel *kripte Liberkhun* terjadi lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok negatif. Sehingga total perhitungan *kripte Liberkhun* secara normal akan lebih banyak. Hasil gambaran berdasarkan penelitian adalah sebagai berikut :

Hasil pengamatan histopatologi pada kelompok kontrol negatif (Gambar A) menunjukkan banyak terjadi kerusakan pada epitel membrane basalis *kripte Liberkhun*. Kelompok negatif menunjukkan gambaran kerusakan mukosa usus yang lebih buruk dibandingkan kelompok lain. Jumlah rata-rata *kripte Liberkhun* yang dapat dihitung secara normal pada kelompok negatif adalah  $2,9 \pm 1,25^a$ . Secara normal akan selalu ada kerusakan *kripte Liberkhun* pada ayam yang sehat. Hal ini diakibatkan oleh pelepasan endotoksin (LPS) pada bakteri *flora normal* seperti *Escherichia coli* (Reisinger, 2020). Bakteri intestinal secara umum berguna dalam proses pencernaan dan perlindungan mukosa usus. Bakteri *E. coli* normal terdapat pada dinding intestinal, tetapi dapat berubah menjadi patogen apabila kondisi ayam sedang menurun (Jamin, 2015). Kerusakan epitel dapat disebabkan akibat inflamasi agen patogen melalui pelepasan toksin yang menyebabkan





Gambar 2. Histopatologi sekum ayam broiler dengan pewarnaan HE perbesaran 100x dan 400x. Keterangan: (A) kontrol negatif, terdapat kerusakan *kripte Liberkhun* pada bagian basal mukosa; (B) kelompok P1 ; (C) kelompok P2 ; (D) kelompok P3; (E) kelompok P4; (a) lapisan mukosa ; (b) lapisan submukosa; (c), lapisan muskularis; (d) lapisan serosa; (e) *kripte Liberkhun*; (panah kuning) sel radang.

dilatasi pada *kripte Liberkhun* (Zekarias et al.,2005).

Hasil pengamatan histopatologi pada kelompok P1 (Gambar B) memperlihatkan adanya kerusakan jaringan pada epitel *kripte Liberkhun* tetapi memiliki derajat yang tdiak berbeda secara nyata dibandingkan kelompok negatif. Jumlah rata-rata kripte yang terhitung secara normal adalah  $3,95 \pm 1,15^{ab}$ . Kerusakan jaringan tidak hanya diakibatkan oleh agen asing dari tubuh, tetapi dapat pula disebabkan oleh heterofil. Secara normal fagositosis terjadi ketika heterofil memproduksi *Reactive Oxygen Spescies* (ROS), namun saat inflamasi heterofil memproduksi ROS yang melebihi kemampuan antioksidan seluler yang kemudian menyebabkan stress oksidatif (Dewi, 2016).

Hasil pengamatan histopatologi pada kelompok P2 (Gambar C) berbeda secara nyata

dibandingkan dengan kelompok P0 dan P1. Rata- rata jumlah *kripte Liberkhun* secara normal adalah  $4,35 \pm 1,09^b$ . Hasil pengamatan histopatologi pada kelompok P3 dan P4 (Gambar D & E) menunjukkan hanya sedikit kerusakan pada epitel *kripte Liberkhun* pada kelompok P3, sementara kelompok P4 tidak menunjukkan adanya kerusakan pada epitel kripte Liberkhun. Kelompok P3 dan P4 berbeda nyata dibandingkan dengan P2, sehingga penambahan serbuk herbal memunculkan efek perbaikan dan pencegahan kerusakan kripte Liberkhun di dalam sekum. Hasil rerata jumlah perhitungan *kripte Liberkhun* secara normal setelah dianalisis menggunakan uji pos hoc *Tukey* dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 di atas, kelompok tanpa penambahan kombinasi serbuk dijadikan sebagai pembanding dalam menentukan adanya

Tabel 3. Hasil perhitungan *kripte Liberkhun* normal pada sekum ayam broiler

Kelompok Perlakuan	Rata -rata jumlah kripte Liberkuhn
Kontrol Negatif	2.9 ± 1.25 <sup>a</sup>
P1 (Penambahan kombinasi serbuk 0,5%)	3.95 ± 1.15 <sup>ab</sup>
P2 (Penambahan kombinasi serbuk 1%)	4.35 ± 1.09 <sup>b</sup>
P3 (Penambahan kombinasi serbuk 1,5%)	5.6 ± 1.54 <sup>c</sup>
P4 (Penambahan kombinasi serbuk 2%)	5.7 ± 1.78 <sup>c</sup>

perubahan yang terjadi pada kelompok P1, P2, P3, dan P4. Kontrol negatif memiliki rerata paling kecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan penambahan kombinasi serbuk. Hal ini menunjukkan bahwa *kripte Liberkhun* pada kelompok negatif mengalami kerusakan yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1, P2, P3, P4. Kelompok negatif tanpa perlakuan memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok perlakuan P2, P3, dan P4 dengan rata rata jumlah *kripte Liberkhun* 4.35 ± 1.09<sup>b</sup>, 5.6 ± 1.54<sup>c</sup>, dan 5.7 ± 1.78<sup>c</sup>. Selain itu kelompok P2 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok P3 dan P4 dengan rerata 5.6 ± 1.54<sup>c</sup>, dan 5.7 ± 1.78<sup>c</sup>. Kelompok perlakuan P3 dan P4 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Penggunaan serbuk herbal dengan dosis 1,5% dan 2 % menunjukkan profil yang baik dalam mencegah kerusakan kriptid *Liberkhun*. Penggunaan dosis 1,5% lebih efektif dibandingkan dengan dosis 2%. Dosis yang lebih sedikit dengan hasil yang sama tetap akan memberikan efek perlindungan terhadap kerusakan kriptid *Liberkhun* serta memberikan efektivitas penggunaan bahan herbal. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, dimana penambahan serbuk herbal pada persentase 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2% seperti jahe merah diketahui memiliki efek yang baik terhadap *feed intake*, berat badan, maupun kondisi organ pencernaan ayam (Herawati, 2010).

Kerusakan yang terjadi pada *kripte Liberkhun* dapat terjadi karena beberapa faktor seperti ketidakseimbangan mikroflora normal. Keseimbangan mikroflora normal dipengaruhi oleh berbagai aspek diantaranya *heat stress* (Saracila *et al.*, 2020). Menurut Ahmad (2022), kondisi *heat stress* diketahui dapat menurunkan jumlah ransum yang dikonsumsi. Hormon ghrelin dan cholelistokinin diketahui meningkat ketika ayam broiler dipapar dengan

suhu ruang 32°C selama 14 hari. Hormon ini ketika meningkat dapat menyebabkan nafsu makan dari hewan. Ayam dengan *heat stress* juga diketahui menyebabkan penurunan bakteri baik (*Lactobacillus and Bifidobacterium*) di dalam usus yang digantikan dengan bakteri patogen seperti *Coliforms and Clostridium*. Suhu merupakan komponen penting dalam pertumbuhan ayam broiler. Ayam akan mengalami peningkatan karkas pada suhu lingkungan optimal 20-24°C (Herawati dan Adiwiranto, 2012). Ayam rentan mengalami *heat stress* dapat menurunkan konsumsi ransum dan efektivitas dalam penyerapan nutrisi, akibatnya dapat menurunkan laju peristaltik sekum dan mengubah komposisi mikroflora usus (Mufadhila, 2017). Hal ini juga berhubungan dengan kepadatan kandang, dimana semakin padat populasi ayam dalam pemeliharaan akan meningkatkan suhu pada kandang (Budiman *et al.*, 2015). Mikroflora normal yang tidak stabil akan cenderung menurunkan tingkat kompetisi dalam mendapatkan nutrisi, akibatnya jumlah bakteri patogen dapat meningkat. Ketika terjadi serangan oleh patogen akan dilepaskan toksin. Toksin dapat merusak lapisan epitel, atrofi villi, dan menyebabkan dilatasi *kripte Liberkhun* dan memunculkan peradangan (Zekarias *et al.*, 2005).

Potensi anti-inflamasi yang terdapat pada kombinasi serbuk herbal diduga bekerja dengan cara memodulasi reseptor IFN $\lambda$ R pada sel heterofil yang bermigrasi ke *kripte Liberkhun* sehingga mempercepat kesembuhan luka yang diakibatkan proses peradangan melalui jalur fosforilasi STAT1, dimana proses ini membantu mencegah kerusakan jaringan yang lebih besar (Rivera, 2019). Secara spesifik heterofil yang diinduksi melalui IFN $\lambda$ R akan memunculkan gen-gen yang kemudian bekerja untuk menghambat rekrutmen heterofil ke lokasi peradangan.

Proses ini dimulai dengan induksi IFN $\lambda$ R oleh zat aktif. Induksi ini kemudian menyebabkan pelepasan phosphor yang terdapat pada rantai dalam reseptor. Phosphor tersebut selanjutnya berikatan dengan *Janus Kinase 1* (JAK1) dan *Tyrosin Kinase 2* (TYK2) yang berikatan pada aktivasi dengan *Signal Transducer dan Activator of Transcription-1* (STAT1). STAT1 kemudian berikatan dengan *Interferon Regulating Factor 9* (IRF-9) lalu masuk ke inti sel untuk memodulasi fase transkripsi pembentukan Interferon Stimulating Genes (ISG). ISG berperan dalam proses anti-inflamasi melalui hambatan rekrutmen dari heterofil (Blazek et al., 2015).

Hasil perhitungan jumlah kripte *Liberkhun* yang didapatkan berkaitan dengan penggunaan metode *In Silico*. Secara *In Silico* semakin banyak zat aktif yang beredar pada lokasi target reseptor maka akan meningkatkan kemungkinan terbentuknya suatu ikatan (*binding possibility*) akibat lingkungan yang lebih polar. Polaritas mempengaruhi jumlah energi ikatan/nilai afinitas ( $\Delta G$ ) yang dibutuhkan dalam membentuk ikatan (Pantasar dan Poso, 2018). Dosis penambahan 1% (P2), 1,5% (P3), dan 2% (P4) menandakan konsentrasi yang lebih banyak pada zat aktif seperti *gingerol-6*, *6-shogaol*, *curcumin*, *tetrahydrocurcumin*, *demetoksicurcumin*, dan *bisdemetoksicurcumin*.

Gambaran histopatologi kelompok P2, P3, dan P4 menunjukkan kerusakan epitel kripte *Liberkhun* yang lebih sedikit dibandingkan kelompok negatif. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi lebih banyak ikatan yang terbentuk pada sisi aktif dari IFN- $\lambda$ R heterofil baik ikatan hidrogen, maupun ikatan van der Waals dan ikatan alkyl sebagai pendukung ikatan hidrogen. Jumlah ikatan yang terbentuk kemudian mempengaruhi banyaknya ekspresi Interferon Stimulating Genes (ISG) yang dihasilkan. ISG ini sendiri berfungsi untuk mengurangi rekrutmen dari heterofil pada situs jaringan sehingga Reactive Oxygen Species (ROS) akan menurun. Penurunan zat ini akan mempercepat kesembuhan luka karena penyebab kerusakan dapat di reduksi (Pingwara et al., 2017).

Peningkatan dosis penambahan kombinasi serbuk herbal berbanding lurus dengan peningkatan *binding possibility* pada reseptor IFN- $\lambda$ R dalam memproduksi ISG dan memo-

dulasi perbaikan jaringan kripte *Liberkhun* yang lebih baik sesuai yang ditunjukkan pada gambar di atas.

## Kesimpulan

Zat aktif yang terkandung dalam jahe merah, kunyit, dan temulawak seperti (*gingerol-6*, *shogaol-6*, *curcumin*, *demetoksicurcumin*, *tetrahydrocurcumin*, *bisdemetoksicurcumin*), menunjukkan adanya interaksi pada proses *molecular docking* dengan *Interferon Lambda receptor* (IFN $\lambda$ R). Hasil analisis *In Silico* menunjukkan *curcumin* memiliki nilai afinitas paling kecil sebesar (-6,0 kkal/mol) didukung model interaksi asam amino reseptor yang membentuk ikatan hidrogen pada residu LEU32. Penggunaan serbuk herbal dengan dosis 1,5% dan 2% tidak berbeda secara nyata. Penggunaan dosis 1,5% lebih efektif dibandingkan dengan dosis 2%. Dosis yang lebih sedikit dengan hasil yang sama tetap akan memberikan efek perlindungan terhadap kerusakan kripte *Liberkhun* serta memberikan efektivitas penggunaan bahan herbal.

## Ucapan Terima Kasih

Kami ucapkan terimakasih kepada semua pihak yang ikut terlibat dalam penelitian ini, terutama bagian Departemen Laboratorium *Animal Disease and Diagnose* (ADD).

## Daftar Pustaka

- Adnyani, K. D., L. W. E. Lestari, H. Prabowo, P. A. I. A. Siaka, dan N. P. L. Laksmiani. (2019). Aktivitas Dari Kuersetin Sebagai Agen Pencerah Kulit Secara *In Silico*. *Jurnal kimia (Journal of Chemistry)*, 13 (2), 207-212.
- Ahmad, R., Yu, YH., Hsiao, F.SH., Su, CH., Liu, HC., Tobin, I., Zhang, G., Cheng, YH., 2021. Influence of Heat Stress on Poultry Growth Performance, Intestinal Inflammation, and Immune Function and Potential Mitigation by Probiotics. *Animals* : 12, 2297
- Arrasyid, M.A. A., Damayanti, D. S., Lestari, R. D. (2020). Studi *In Silico* Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale Rosc.*) terhadap Penghambatan

- Asetilkolinesterase,  $\beta$ -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik. *Jurnal Kedokteran Komunitas*, Volume 8, Issue 2.
- Arwansyah, Ambarsari, L., Sumaryada, I. T., (2014). Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*, Volume 1 (1): 11-19.
- Blazek, E., Eames, H. L., Weiss, M., Byrne, A. J., Perocheau, D., Pease, J. E., Doyle, S., McCann, F., Williams, R. O., Udalova, I. A. (2015). IFN-lambda resolves inflammation via suppression of neutrophil infiltration and IL-1beta production. *J Exp Med*, 3. V.212(6); 2015.
- BPS. (2019). *Produksi Daging Ayam Ras Pedaging nasional 2015-2019*. Jakarta: Badan Pusat Statistik. Diakses pada 14 Januari 2020. Domain Badan Pusat Statistik (bps.go.id)
- Budiman, H., Sugito, S., Nanda, W., Hanafiah, M. (2015). Influence of Population Density of Broiler Chickens (*Gallus sp.*) in Cages to the Hypertrophy of Adrenocortical Cells. *Jurnal Medika Veterinaria*, Vol. 9 No. 2.
- Dai, J. M., Nicholas J. Megjugorac, Grant E. Gallagher, Raymond Y. L. Yu, and Grant Gallagher. (2009). IFN-lambda1 (IL-29) inhibits GATA3 expression and suppresses Th2 responses in human naive and memory T cells *Blood*. *Blood*, 113:5829–38.
- Dewi, A. A. (2016). *Uji aktivitas antioksidan protein biji melinio terhidrolisis terhadap radikal bebas superoksida neutrofil in Vitro*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Dewi, S. (2010). *Daya Antiinflamasi Ekstrak Etanolik Jahe Merah (Zingiber officinale Roxb.) dan Kencur (Kaempferia galangal L.) pada Mencit Putih Jantan*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Fitriah, A. (2017). *Analisis interaksi senyawa flavonoid sukun (arocarpus altilis) terhadap reseptor estrogen alfa (ERA) secara In Silico sebagai model Kandidat Antikanker Payudara*. Thesis : Universitas Islam Negeri Maulanan Malik Ibrahim Malang.
- Fitriyah, N. (2012). *Efek Ekstrak Etanol 70% Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale Rosc. Var. Rubrum) terhadap Peningkatan Kepadatan Tulang Tikus Putih Betina RA (Rheumatoid Arthritis) yang Diinduksi oleh Complete Freund's Adjuvant*. Depok: Universitas Indonesia.
- Gallien, S., Duriez, E., & Domon, B. (2011). Selected reaction monitoring applied to proteomics. *Journal of Mass Spectrometry*, 46(3), 298–312.
- Hamming, O. J., Gad, H. H., Paludan, S., Hartmann, R. (2010). Lambda Interferons: New Cytokines with Old Functions. *Pharmaceuticals*, 3, 795-809.
- Herawati, Adiwianto, G. (2012). Effective Temperature at Finisher Phase to Promote Relative Growth Rate of Broiler Strain Cobb. *International Journal of Poultry Science*, 11 (10): 644-648.
- Herawati (2010). The Effect of Feeding Red Ginger as Phytobiotic on Body Weight Gain, Feed Conversion and Internal Organs Condition of Broiler. *International Journal of Poultry Science*, 9 (10): 963-967.
- Hilmiyanti, H. (2018). *Uji aktivitas anti-inflamasi jahe merah (Zingiber officinale Var. Rubrum Theilade pada pemakaian topical terhadap mencit jantan*. Padang: Universitas Andalas.
- Jamin, F. e. (2015). Infection of Escherichia coli Bacteria on Chick Gallus domesticus at Lambaro Market Aceh besar. *Jurnal Medika Veterinaria*, Vol. 9 No. 1, Februari 2015.
- Kilo, A. L., Aman, L. O., Sabihi, I., Kilo, J.L. (2019). Study of Potential of 1-N-Substituted Pyrazoline Analogues of Thiosemicarbazones as Antiamoebic Agent using *In Silico* Screening. *Indo. J. Chem. Res*, , 7(1), 9-16.

- Masula, A. F. Puspitasari, D., S. W. E. Supratin, Ummah, K., Rokhmatin, D., M. Mubarrok M., Hariza, A. T., Isnawati, Purnama, E. R. (2018). Docking molekuler senyawa metabolit sekunder Lantana camara Sebagai Antiinflamasi terhadap Enzim COX-1. *Jurnal Biota*, Vol.4 Hal 79.
- Mufadhila, W. D. (2017). *Pengaruh Pemberian Kapang Rhizopus oryzae atau Chrysonilia crassa terhadap Populasi Bakteri dalam Ileum Ayam Broiler yang Dipelihara pada Kondisi Panas*. Semarang: Fakultas Peternakan Dan Pertanian Universitas Diponegoro.
- Pantsar, T., dan Poso A. (2018). Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction. *Molecules*, 23, 1899.
- Pingwara, R., K. Witt-Jurkowska, K. Ulewicz, J. Mucha, K. Tonecka, Z. Pilch, B. Taciak, K. Zabielska- Koczywas, M. Mori, S. Berardozzi, B. Botta, T. P. Rygiel, M. Krol. (2017). Interferon Lambda 2 promotes mammary tumor metastasis via angiogenesis extension and stimulation of cancer cell migration. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 68, 4, 573-583.
- Putri, R.A., Masyita, D., Zainuddin, Z., Fitriani, F., Nazaruddin, N. Gani, F. A., Balqis, U. (2019). Studi Histologis Usus Besar Sapi Aceh. *JIMVET E-ISSN : 2540-9492*, 3(2):62-70.
- Rachmania, R. A., Supandi, Larasati, O. A. (2015). Analisa *In Silico* senyawa diterpenoid lakton herba sambiloto pada reseptor alpha-glucosidase sebagai antidiabetes tipe II. *PHARMACY*, Vol.12 No.02.
- Reisinger, N., Emsenhuber, C., Doupovec, B., Mayer, E., Schatzmayr, G., Nagl, V., Grenier, B., 2020. Endotoxin Translocation and Gut Inflammation Are Increased in Broiler Chickens Receiving an Oral Lipopolysaccharide (LPS) Bolus during Heat Stress. *Toxins* 2020, 12, 622.
- Rivera, A. (2019). Interferon Lambda's New Role as Regulator of Neutrophil Function. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, Volume 39, No. 10.
- Sahara, E, S. Sandi, dan F. Yosi (2019). Peranan Kitosan dalam Menghasilkan Produk Ternak Unggas yang Sehat. *Jurnal peternakan sriwijaya* , Vol. 8, No. 2, pp.58-68.
- Saracila, M., Panaite, T.D., Tabuc, C., Soica, C., Untea, A., Varzaru, I., Wojdylo, A., Criste, R.D., 2020. Maintaining intestinal microflora balance in heat-stressed broilers using dietary creeping wood sorrel (*Oxalis corniculata*) powder and chromium (chromium picolinate). *Spanish Journal of Agricultural Research : Volume 18, Issue 3, e0612*.
- Sugiyono. (2004). *Kimia Pangan*. Yogyakarta : Fakultas Teknik Universitas Negeri Yogyakarta.
- Sulastri, S. (2012). *Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid terhadap Enzim HMG CoA Reduktase*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, Vol 4, No 1. Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Susilawati, I.D.A., 2021. Kajian Pustaka: Sumber Reactive Oxygen Species (ROS) Vaskular. Stomatognatic (J.K.G Unej) Vol. 18 No. 1 2021: 1-10.
- Suryani, E. A., Karimy, M. F., Istiqomah, L., Sofyan, A., Herdian, H., Wibowo, M. H. (2014). Prevalensi kolibasilosis pada ayam broiler yang diinfeksi E. Coli dengan pemberian bioaditif, probiotik, dan antibiotik. *Widyariset*, Vol. 17 No. 233–244.
- Syedbasha, M., and Egli, A. (2017). Interferon Lambda: Modulating Immunity in Infectious Diseases. *Frontiers in Immunology*, Volume 8, Article 119.
- Tiring, S. S. N. D., Bare, Y., S. Mansur., Maulidi, A., Nugraha, F. A. D. (2019 ). *Studi In Silico: Prediksi Potensi 6-shogaol dalam Zingiber officinale sebagai Inhibitor c-Jun N-terminal kinase*. *Al-Kimia Volume 7 Nomor 2* , 147-150.
- Walters, W. P. (2012). Going further than Lipinski's rule in drug design. *Expert Opin. Drug Discov.* 7(2).99-107.

Zekarias, B. D., Stockhofe-Zurwieden, N., Post, J., Balk, F., Reenen, C. V., Gryus, E., Rebel, J.M.J. (2005). The pathogenesis of and susceptibility to malabsorption

syndrome in broilers is associated with heterophil influx into the intestinal mucosa and epithelial apoptosis. *Avian Pathology*, 34(5), 402/407.