

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/284719980>

PENGARUH SKOPOLETIN DARI BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP JUMLAH IgE MENCIT JANTAN DENGAN HIPERSENSITIVITAS TIPE I

Article · May 2012

CITATIONS
0

READS
1,350

6 authors, including:



Yufri Aldi
Universitas Andalas

33 PUBLICATIONS 29 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Dian Handayani
Universitas Andalas

50 PUBLICATIONS 267 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Post Graduate Research Project [View project](#)



Endophytic fungi derived from West Sumatran Mangrove Plants as Source of anticancer and antimicrobial compounds [View project](#)

JURNAL BAHAN ALAM INDONESIA

(The Indonesian Journal of Natural Products)

ISI:

Penetapan Kadar Vitamin C dalam <i>Pisonia satiwon</i> Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi Denasimetri (Harmita, Herman S, and Koba LAP).....	66-70
Ekstrak Etanol Propolis Isolat Gunung Lawu Menurunkan Kadar IgE Serum Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) Model Asma Akut (Ida N, Sri Hartati Hafidoto, Jamri Subandono, Diding HP).....	71-76
Pengaruh Skopoletin dari Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) Terhadap Jumlah IgE Memicu Jantan dengan Hiperresponsivitas Tipe 1 (Yufri Aldi, Elyza Nasul, Yanwirasti, Dian Handayani, Anni Bakhtiar).....	77-83
Isolasi β -anaron dari rimpang dringo (<i>Acorus calamus</i> Linn.) serta uji aktivitas antimikroba (Sri Hartati, Atiek Soemiat, Ela Imawati A).....	84-91
Aktivitas Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil Oleh Ekstrak Metanol Daun Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) dan Fraksi-fraksinya (Tanang Irianti, Andayam Pidan Nur AC).....	92-101
Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe) dan Zn Sebagai Antiateroma pada Kelinci New Zealand White Diet Tinggi Kolesterol (Priyanto, Agik S, Nanti K, Dewi RA).....	102-108
Profil Alkaloid Kainolin Pada Kultur In Vitro <i>Cinchona ledgeriana</i> Moens (Ardi Rantamsyah, Komar W, Elhami).....	109-117
Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Cincin Hijau Rambut (<i>Cyclos barbata</i> Miem.) Serta Identifikasi Golongan Senyawa dan Fraksi Yang Paling Aktif (Katrin, Berni Elya, AlIMS).....	118-124
Studi Penetrasi In Vitro Topikal Gel Nanoemulsi Kurkumin Menggunakan Metode Sel Difusi Franz (Mahdi Jufri, Abdul Munim, Suci SU).....	125-131
Identifikasi <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester</i> Dalam Ekstrak Etanol Propolis Isolat Gunung Lawu (Sazono, Ippu S, Martini, Diding HP).....	132-136
Aktivitas Ekstrak Terpenfikasi Daun Surian (<i>Toosia nuxei</i> BL Merr.) Terhadap Daurfangsi Sel Endotel Hiperkolesterolemia (Suhatri, Yanwirasti, Dachriyanus, Elyza).....	137-140
Nilai Tempoi dan Aktivitas Farmakologi Tambahan Obat Untuk Antimalaria (Linus Yhani Chrystomo, Aditya Krishna Karim, Ign. Joko Suyono, Maldi on Wagar).....	141-151



Penerbit:

**PERHIMPUNAN PENELITI BAHAN OBAT ALAMI
(PERHIPBA)**

PENGARUH SKOPOLETIN DARI BUAH MENKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP JUMLAH IgE MENCIT JANTAN DENGAN HIPERSENSITIVITAS TIPE I

(Effect of scopoletin from mengkudu fruit to the amount of IgE on white male mice with type I hypersensitivity)

Yufri Aldi¹, Ellyza Nasrul², Yanwirasti², Dian Handayani¹, Amri Bakhtiar¹
¹Fakultas Farmasi Unand Padang, ²Fakultas Kedokteran Unand Padang.

*Alamat Korespondensi: yufri_aldi@yahoo.co.id

ABSTRACT

In vitro study on scopoletin isolated from fruit of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) to the amount of Immunoglobulin Epsilon (IgE) on white male mice with type I of hypersensitivity has been done. Result showed that scopoletin on the dose of 1,3 and 10 mg/kgBW was able to decrease the amount of IgE (P<0,01). Decrease in serum IgE levels of mice with type I hypersensitivity scopoletin by administering a dose of 10 mg/kg bw able to lower IgE levels to the normal range (p <0.01)

Keywords: *Morinda citrifolia* L., scopoletin, type I of hypersensitivity, Immunoglobulin Epsilon (IgE).

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian secara *in vitro* pengaruh skopoletin dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap jumlah immunoglobulin epsilon (IgE) pada mencit jantan dengan hipersensitivitas tipe I. Hasil penelitian menunjukkan pemberian skopoletin pada dosis 1, 3 dan 10 mg/kg bb dapat menurunkan jumlah IgE pada mencit dengan hipersensitivitas tipe I (p<0,01). Penurunan kadar IgE serum mencit dengan hipersensitivitas tipe I dengan pemberian skopoletin dosis 10 mg/kg bb mampu menurunkan kadar IgE sampai batas normal (p<0,01).

Kata kunci : mengkudu, skopoletin, hipersensitivitas tipe I, immunoglobulin epsilon (IgE).

PENDAHULUAN

Reaksi hipersensitivitas tipe I merupakan reaksi imunologik terhadap antigen secara tidak wajar atau tidak tepat pada seseorang yang sebelumnya pernah tersensitisasi dengan antigen yang bersangkutan, dan terjadi jika individu menghasilkan antibodi IgE untuk merespon antigen atau alergen tersebut (1). Yang termasuk dalam reaksi hipersensitivitas tipe I ini adalah asma bronkhial,

rhinitis alergi, dermatitis atopik dan lain lain. Pencetus reaksi hipersensitivitas tipe I diantaranya serbuk sari, makanan, udara dingin dan kering, debu, asap, binatang, obat, jamur, virus, senyawa kimia hasil industri dan emosional atau stress (2,3).

Masuknya alergen ke dalam tubuh menimbulkan respon imun dengan dibentuknya IgE dan selanjutnya IgE tersebut terikat pada permukaan sel mast dan sel basofil (4,5). Proses pemaparan alergen dimulai dengan proses fagositosis oleh sel makrofag. Sel makrofag akan memecah alergen tersebut menjadi beberapa fragmen peptide dan selanjutnya fragmen tersebut diikat oleh molekul MHC kelas II dan dibawanya pada permukaan sel makrofag tersebut dan selanjutnya dipresentasikan ke sel Tho (helper naif). Sel makrofag akan melepaskan beberapa sitokin seperti IL-1(interleukin) dan TNF- α (tumor necrosis factor- α). Sel Th yang mendapat sinyal dari makrofag mengalami diferensiasi dan proliferasi menjadi sel Th1 dan sel Th2. Alergen yang masuk juga difagosit oleh sel mastosit dan sel basofil, selanjutnya sel ini akan melepaskan IL-4. Dengan tingginya kadar IL-4 maka proliferasi dan diferensiasi sel Tho hanya menuju sel Th2. Sel Th2 yang terbentuk akan melepaskan beberapa sitokin seperti IL-4, IL-5, IL-10, dan IL-13 (6). IL-4 mempunyai efek langsung pada sel limposit B dan sel ini berdiferensiasi dan berproliferasi menjadi plasma, yang selanjutnya menghasilkan IgE (7,8).

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat alergi adalah buah mengkudu atau buah noni (9). Penggunaan tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat, dewasa ini sangat banyak digunakan oleh masyarakat. Penggunaan tumbuhan sebagai obat harus ditunjang dengan penelitian secara ilmiah sehingga kebenaran khasiatnya dapat dibuktikan (10). Disamping digunakan sebagai obat alergi, buah mengkudu juga telah digunakan orang sebagai antibakteri, antiviral,

antitumor, antihelmentik, analgetik, hipotensi, anti-inflamasi dan meningkatkan ketahanan tubuh, menekan pertumbuhan sel tumor, anti-ulcer (11,12, 13).

Hasil penelitian yang telah dilakukan khusus terhadap reaksi alergi ternyata ekstrak etanol buah mengkudu dapat menghambat reaksi anafilaksis kutan aktif pada mencit putih yang diinduksi dengan albumin (14) dan secara *in-vitro* dapat menghambat degranulasi mastosit tersensitisasi yang diinduksi dengan albumin (15). Pada pemakaian topikal ekstrak etanol juga dapat menekan reaksi inflamasi (16). Penelitian terakhir juga diketahui ekstrak etanol buah mengkudu dapat meningkatkan titer antibodi mencit putih jantan yang diinduksi dengan sel darah merah kambing dan dapat meningkatkan jumlah sel limposit, neutrofil batang dan sel eusinofil (17).

Salah satu zat aktif yang terdapat didalam ekstrak etanol buah mengkudu adalah skopoletin. Jumlah skopoletin dalam serbuk kering buah mengkudu tidak kurang dari 0,02% (18). Penelitian terakhir juga disebutkan bahwa skopoletin dapat menghambat degranulasi mastosit mencit. Disamping itu dilaporkan juga bahwa skopoletin dapat menghambat produksi PGE₂ (prostaglandin E₂), TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan menekan COX-2 (19). Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti mencoba membuktikan pengaruh senyawa skopoletin dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap antibodi IgE pada mencit putih jantan yang mengalami reaksi hipersensitivitas tipe I.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah kertas saring, seperangkat alat soxhlet, *rotary evaporator*, seperangkat alat kromatografi kolom, vial, bejana KLT dan plat KLT, desikator, pipet tetes, alat suntik, gelas ukur, timbangan hewan, spatel,

jarum oral, timbangan analitik, wadah (botol), lumpang dan stamper, gunting bedah, lampu UV 365 nm, seperangkat alat sentrifuge, tabung sentrifuge, spektrofotometer UV-Vis 1601 (Pharmaspec 1700), spektrofotometer IR (Perkin Elmer 735) dan spektrofotometer BIO-RAD.

Bahan yang digunakan adalah daging buah mengkudu (*M. citrifolia* Linn.) yang telah dikeringkan dan dihaluskan, diklorometan (DCM), heksan, etil asetat, metanol, air suling, NaCl fisiologis, Na CMC, skopoletin pembanding (Exrtasynthese, Lot 10041510), aquadest, HCl (asam klorida) 12N, ovalbumin (Merk No. Lot.20HO763 A-5253) dan kit Mouse IgE ELISA (Immunology Consultants Laboratory, Inc. E-90E, Lot#6),

Isolasi Senyawa Skopoletin

Serbuk kering buah mengkudu diekstraksi dengan alat soxhlet dengan pelarut diklorometana. Ekstrak yang didapat diuapkan *in vacuo* sampai kental dan selanjutnya dikeringkan. Eluat yang keluar ditampung dengan vial dan senyawa skopoletin yang terisolasi dimonitor kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penampak noda lampu ultra violet (UV) pada panjang gelombang 365 nm. Senyawa skopoletin terdeteksi pada vial ke 6 sampai dengan vial ke 12. Noda yang diperoleh masih *telling* dan ini menandakan masih ada senyawa lain. Senyawa skopoletin yang ada dalam ke- tujuh vial digabungkan dan dikeringkan. Untuk memurnikan senyawa skopoletin yang diperoleh dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam sephadex dan fase gerak metanol. Senyawa skopoletin murni yang diperoleh dianalisis dengan spektroskopi UV, IR dan ditentukan jarak lelehnya.

Teknik Pembuatan Hewan Sensitif

Mencit sehat dengan berat badan 20-25 g disuntik secara intraperitoneal dengan ovalbumin 250 mg/kg bb. Pada hari ketiga ovalbumin diberikan lagi dengan dosis sama secara subkutan. Hewan dinyatakan sensitif jika pada hari ke tujuh diberikan ovalbumin dosis 250 mg/kg bb secara subkutan timbul warna kemerahan ditempat penyuntikan.

Pemberian sediaan Uji

Kelompok perlakuan terdiri atas 5 kelompok yaitu; kelompok I adalah hewan normal, kelompok II adalah mencit yang telah mengalami reaksi hipersensitivitas tipe I (kontrol positif) hanya diberikan larutan NaCl fisiologis, kelompok III diberi senyawa skopoletin dosis 1 mg/kg bb, kelompok IV dosis 3 mg/kg bb dan kelompok V dosis 10 mg/kg bb. Senyawa skopoletin langsung diberikan pada saat terlihat tanda kemerahan ditempat suntikan.

Penentuan Jumlah IgE

Setelah 24 jam pemberian senyawa skopoletin, darah diambil dengan metode *guillotine*. Darah yang diperoleh didiamkan selama 30 menit selanjutnya di sentrifus dan diambil serum. Kadar IgE ditentukan dengan metode *ELISA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

senyawa skopoletin yang diisolasi dari buah mengkudu adalah 0,01%. Menurut Farmakope Herbal Indonesia I tahun 2008 kandungan senyawa skopoletin di dalam simplesia buah mengkudu (serbuk) tidak kurang dari 0,02%. Ini menunjukkan proses penyarian belum optimal, sehingga senyawa skopoletin yang diperoleh masih relatif sedikit.

Hasil pemeriksaan KLT senyawa skopoletin hasil isolasi dan skopoletin pembanding (*Exrtasynthase Perancis*) dengan eluen n-heksana: etil asetat (1,5 : 3,5) menunjukkan nilai Rf sama yaitu 0,56 (Gambar 1).

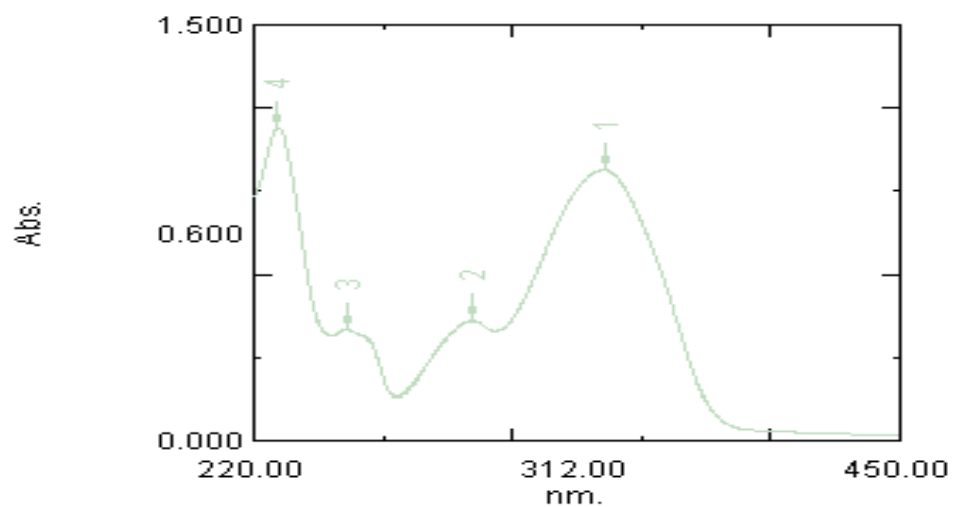


1 2

Gambar 1. Kromatogram lapis tipis skopoletin hasil isolasi dan perbandingan dibawah lampu UV₃₆₅ nm.

Keterangan : No 1. Isolat skopoletin
No 2. Skopoletin perbandingan (Exrtasyntase Perancis)

Hasil pemeriksaan spektrum ultraviolet (UV) terhadap skopoletin hasil isolasi memberikan bentuk spektrum yang sama dengan skopoletin perbandingan. Hasil pemeriksaan spektrum UV dari skopoletin hasil isolasi Gambar 2. dan perbandingan hasil panjang gelombang dan nilai absorban dari kedua senyawa tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

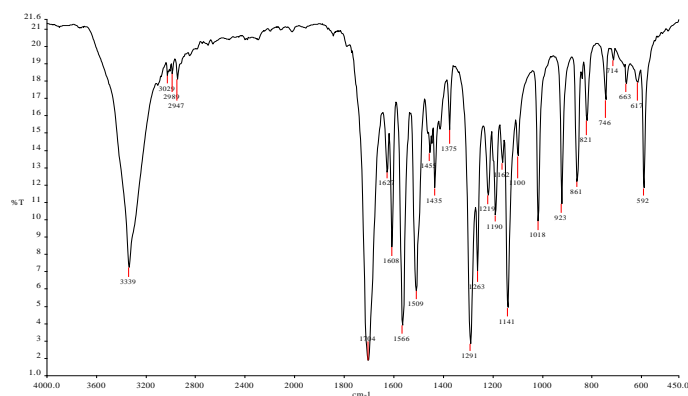


Gambar 2. Spektrum UV isolate skopoletin

Tabel 1. Panjang gelombang (λ) puncak dan Absorban skopoletin dari buah mengkudu dan skopoletin pembanding.

No	Panjang gelombang (λ) puncak skopoletin dari pembanding	Panjang gelombang (λ) puncak skopoletin dari buah mengkudu	Absorban skopoletin dari pembanding	Absorban skopoletin dari buah mengkudu
1	345,2 nm	345,50nm	0,481	0,411
2	296,0 nm	297,0 nm	0,237	0,151
3	254,0 nm	253,0 nm	0,271	0,119
4	228,6 nm	228,4 nm	0,671	0,423

Pemeriksaan spektrum *infrared* (IR) menunjukkan skopoletin yang diisolasi dari buah mengkudu memiliki spektrum yang sama dengan skopoletin pembanding dan hasil perbandingan bilangan gelombang dari kedua senyawa tersebut dapat dilihat Tabel 2. Spektrum IR senyawa skopoletin hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum IR isolate skopoletin

Tabel 2. Bilangan gelombang (cm^{-1}) dan gugus fungsi skopoletin dari buah

mengkudu dan skopoletin pembeding (*Extrasynthese*, Perancis)

No	Bilangan gelombang (cm ⁻¹) skopoletin pembeding	Bilangan gelombang (cm ⁻¹) skopoletin dari buah mengkudu
1	3339 (3700-3100)	3339 (3700-3100)
2	1703 (1900-1650)	1704 (1900-1650)
3	1608, 1567, 1510 (1600-1450)	1566, 1509, 1456 (1600-1450)
4	1447, 1435 (1465-1350)	1455, 1435, 1375 (1465-1350)
5	1220, 1190, 1161, 1141, 1100, 1019 (1250-1000)	1219, 1190, 1161, 1140, 1100, 1018 (1250-1000)
6	862, 841, 821, 746, 714	861, 821, 746, 714 (900-700)

Percobaan diawali dengan sensitisasi mencit dengan ovalbumin. Dosis yang digunakan adalah 250 mg/kg bb secara intraperitoneal. Tujuan pemberian secara intraperitoneal adalah untuk pengenalan antigen ke sistem imun hewan lebih cepat karena pada rongga peritoneal banyak terdapat sel makrofag (MHC kelas II), sehingga hewan menjadi cepat sensitif terhadap antigen. Paparan berikutnya diberikan pada hari ketiga dengan antigen dan dosis yang sama dengan pemberian hari pertama secara subkutan dan setelah penyuntikan ini belum terlihat adanya reaksi hipersensitivitas tipe I. Pada hari ketujuh hewan diberikan ovalbumin 250 mg/kg bb secara subkutan dan hewan yang memberikan reaksi hipersensitivitas tipe I ditandai dengan warna kemerahan di sekitar suntikan pemberian ovalbumin. Reaksi kemerahan terjadi akibat ikatan antara antigen ovalbumin dengan IgE yang telah terikat pada permukaan sel mastosit dan sel basofil. Bila antigen yang sama masuk untuk kedua kalinya maka satu molekul antigen akan berikatan dengan 2 molekul IgE yang berdekatan pada fragmen Fab. Terbentuknya kompleks antara antigen dengan 2 molekul IgE yang terikat pada permukaan sel mast dan sel basofil akan memicu aktivitas enzimatis

dalam membran sel tersebut dan selanjutnya terjadi pelepasan mediator-mediator kimia yang tersimpan pada granula dalam sel mast dan sel basophil seperti histamine, bradikinin, prostaglandin, leukotriene dan lain sebagainya. Mediator ini bertanggung jawab terhadap timbulnya reaksi hipersensitivitas tipe I. Mediator histamine secara kolektif mengakibatkan peningkatan permeabilitas kapiler dan vasodilatasi pembuluh darah sehingga timbul kemerahan pada kulit mencit.

Senyawa skopoletin diberikan dengan dosis, 1, 3, dan 10 mg/kg bb peroral mencit yang positif terjadi reaksi hipersensitivitas tipe I. Setelah 1 hari (24 jam) pemberian senyawa uji, hewan dikorbankan dengan cara *guillotine*, serum dipisahkan dan selanjutnya ditentukan jumlah IgE dengan metode *ELISA*.

Pada penentuan jumlah IgE, terlebih dahulu dibuat kurva standar menggunakan standar IgE dari kit pada panjang gelombang 450 nm. Kadar IgE di dalam serum mencit hipersensitivitas tipe I seperti pada Tabel 3 dan Gambar 4.

Tabel 3. Kadar IgE dari serum mencit putih jantan hipersensitivitas tipe I setelah pemberian skopoletin dari buah mengkudu.

No.	Kelompok Perlakuan	Kadar IgE (ng/ml)					Rata rata Kadar IgE (ng/ml)
		1	2	3	4	5	
1	I	396,25	395,00	435,00	400,00	436,25	412,50± 21,19
2	II	1642,50	2165,00	2161,25	1808,75	1633,75	1882,25±265,72
3	III	1196,25	1191,25	1060,00	711,25	1002,50	1032,25±198,04
4	IV	648,75	916,25	707,50	646,25	967,50	777,25±153,34
5	V	541,25	631,25	630,00	696,25	763,75	652,50±83,10

Keterangan : I. Hewan normal.

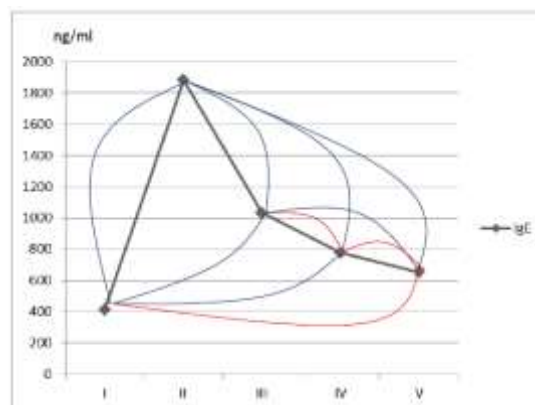
II. Hewan kontrol positif (larutan NaCMC).

III. Hewan hipersensitivitas tipe I dosis 1 mg/kg bb.

IV. Hewan hipersensitivitas tipe I dosis 3 mg/kg bb.

V. Hewan hipersensitivitas tipe I dosis 10 mg/kg bb.

Pemberian senyawa skopoletin pada dosis 1, 3 dan 10 mg/kg bb kepada mencit hipersensitivitas tipe I setelah dilakukan analisa varian satu arah ternyata senyawa skopoletin mampu menurunkan kadar IgE dengan sangat nyata pada $p < 0,01$. Bila dilihat efek penurunan kadar IgE oleh pemberian senyawa skopoletin dari masing masing dosis dapat dilanjutkan dengan uji Bonferroni. Penurunan kadar IgE yang di akibatkan oleh pemberian skopoletin dosis 1 mg/kg bb pada mencit hipersensitivitas tipe I bila dibandingkan dengan mencit kontrol positif (mencit hipersensitivitas tipe I) penurunannya sudah bermakna pada $p < 0,05$ begitu juga dengan dosis 3 mg/kg bb dan 10 mg/kg bb. Efek penurunan yang diakibatkan oleh dosis 1 mg/kg bb bila dibandingkan dengan dosis 3 mg/kg bb ternyata tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) sedangakn bila dibandingkan antara dosis 1 mg/kg bb dengan dosis 10 mg/kg bb ternyata terjadi perbedaan secara bermakna ($p < 0,05$). Kemampuan penurunan kadar IgE oleh pemberian skopoletin pada dosis 10 mg/kg bb dari mencit hipersensitivitas tipe I bila di bandingkan dengan kadar IgE mencit normal ternyata tidak terjadi perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) (Gambar 4). Dengan demikian pemberian senyawa skopoletin pada dosis 10 mg/kg bb telah mampu menurunkan kadar IgE mencit hipersensitivitas tipe I sampai pada batas normal.



Gambar 4. Hubungan antara dosis senyawa skopoletin yang diberikan dengan kadar IgE pada mencit putih jantan hipersensitivitas tipe I.

Keterangan :

————— P < 0,05

————— P > 0,05

- I. Hewan normal.
- II. Hewan kontrol positif (larutan NaCMC).
- III. Hewan hipersensitivitas tipe I dosis 1 mg/kg bb.
- IV. Hewan hipersensitivitas tipe I dosis 3 mg/kg bb.
- V. Hewan hipersensitivitas tipe I dosis 10 mg/kg bb.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian skopoletin dengan dosis 1, 3, dan 10 mg/kg BB dapat menurunkan kadar IgE serum mencit dengan hipersensitivitas tipe I ($p < 0,01$). Penurunan kadar IgE serum mencit hipersensitivitas tipe I dengan pemberian skopoletin dosis 10 mg/kg bb mampu menurunkan kadar IgE sampai batas normal.

DAFTAR RUJUKAN

1. Janeway CA. 2001. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. New York: Marion Morrow, Rory MacDonald Garland Publishing, 143-164.
2. Kindt TJ, Golgsby RA, and Osborn BA. 2007. *Kuby Immunology*, WH Freeman and Company, New York, 362-379.
3. Dipiro JT, Tabert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. 2008. *Pharmacotherapy, A Pathophysiologic Approach*, 7th Ed. Mc Graw-Hill, Medical Publishing Division, New York, 1417-1430.
4. Robinson DS, Larche M and Urham SR. 2008. Tregs and Allergic Disease, *J Clin Invest*, 114, 1389–1397.
5. Bellavite P, Conforti A, Pontarollo F and Ortolani. 2006. Immunology and Homeopathy; Cells of the immune system and inflammation *Evid Based Complement Altern Med*. 3, 13–24.
6. Burtis CA, Ashwood ER and Bruns DE. 2008. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4 ed., Elsevier Inc. USA, Washington, D.C., 645-723.
7. Karlsson MR, Rugtveit J and Brandtzaeg P. 2004. Allergen-responsive CD4+CD25+ regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy *J Exp Med*; 199, 1679–88.
8. Maizels RM. 2005. Infections and allergy 12elminthes, hygiene and host immune regulation *Curr Opin Immunol*; 17, 656–61.
9. Bangun AP dan Sarwono B. 2005 *Khasiat Dan Manfaat Mengkudu.*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
10. Winarti C. 2005 Peluang pengembangan minuman fungsional dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Litbang Pertanian*, 24 (4), 149-155.
11. Wang MY, Brett J, Jensen CJ, Nowicki D, Su CX, Palu AK, Anderson G, 2002. *Morinda citrifolia* (Noni): A Literature Review and Recent Advances in Noni Research, *Acta Pharmacologica Sinica* Dec, 23 (12): 1127-1141.

12. Jayaraman SK, Manoharan MS and Illanchezian S. 2008. Antibacterial, antifungal and tumor cell supression potential of *Morinda citrifolia* fruit extract. *International journal of Integrative biology*, 3, (1), 44-49.
13. Muralidharan P and Srikanth J. 2009. Antiulcer activity of *Morinda cirifolia* Linn. fruit extract. *J. Sci. Res.* 1, (2), 345-352.
14. Aldi Y, Camela D dan Lisawati Y. 2003. Aktivitas Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Reaksi Anafilaksis Kutan Aktif pada Mencit Putih Jantan, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesi, Yayasan Perintis Padang.
15. Aldi Y, Roni dan Dharma S. 2006. Pengaruh Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Degranulasi Mastosit, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesi, yayasan Perintis Padang.
16. Aldi Y, Hafizni dan Suhatri. 2007. Uji Efek Antiinflamasi Ektrak buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) secara Topikal, Farmasi FMIPA Universitas Andalas Padang.
17. Aldi Y, Amalia D dan Ilyas Y. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Peningkatan Antibodi dan Jumlah sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesi, yayasan Perintis Padang.
18. Moon PD, Lee BH, Jeong HJ, An HJ, Park SJ, Kim HR, Ko SG, Um JY, Hong SH, and Kim HM. 2007. Use of scopoletin to inhibit the production of inflammatory cytokines through inhibition of the I κ B/NF-Kb signal cascade in the human mast cell line HMC-1, *European Journal of Pharmacology*, Volume 555, Issues 2-3, 218-225.
19. Hyung JK, Seon J, Young JK, Hun TC, Yong GY, Tai HK, Sam J and Youn CK. 2004. Scopoletin suppresses pro-inflammatory cytokines and PGE₂ from LPS-stimulated cell line, RAW 264.7 cells. *Fitoterapia*, Vol, 75, 3-4, 261-266.