

DISERTASI

**PENGARUH SKOPOLETIN DARI BUAH
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP
IL-4, IL-10 DAN IgE PADA MENCIT PUTIH
JANTAN HIPERSENSITIVITAS TIPE I**



Oleh

YUFRI ALDI

BP : 07301002

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS**

2013

SUMMARY

THE EFFECT OF SCOPOLETIN ISOLATED FROM NONI FRUIT (*Morinda citrifolia* L.) ON THE LEVEL OF IL-4, IL-10 AND IgE IN WHITE MALE MICE WITH TYPE I HYPERSENSITIVITY

Yufri Aldi

One of the plant used to treat type I hypersensitivity reaction is noni fruit (*Morinda citrifolia* L.). Previous studies have shown that ethanolic extract of noni fruit could inhibit cutaneous anaphylactic reaction on male mice and in-vitro inhibition of sensitized mastocyte degranulation. Ethanolic extract from its leaves in topical usage could suppress inflammation. Recent research of noni ethanol extract has been known to increase antibody titer on white male mice which was induced by goat red blood cells and also increase the amount of lymphocyte, neutrophil, and eosinophil. Scopoletin is one of the active compound that contained in ethanolic extract of noni fruit.

Noni fruit (*Morinda citrifolia* L.) used in the present study was taken from Kuraao Pagang-Nanggalo, Padang City in West Sumatra. The plant identification was performed in Andalas Herbarium (ANDA), Andalas University, Padang, West Sumatra. The mature fruits were cut slightly, while the seeds were removed and dried and then made into powder. The isolation of 960 gram dry powder of noni fruit was started with soxhlet by using dichloromethane. The extract was then being dried and isolation process was continued with column chromatography by using *silica gel* as stationary phase and mixture of n-hexane and ethyl acetat as mobile phase. The scopoletin was purified with column chromatography by using *Sephadex* LH20 as stationary phase and methanol as mobile phase. 99,9 mg pure scopoletine obtained was determined by using UV, IR spectroscopy methods and measuring its melting point, while the purity grade was determined by using HPLC method.

To induce type I hypersensitive reaction, the experimental animals were injected intraperitoneally with ovalbumine with dose of 5 mg/20 g. On the 3rd day, mice were injected with ovalbumine with dose of 5 mg/20 g subcutaneously. The animals were claimed to have type I hypersensitivity reaction if the reddish color appeared on the 7th day after ovalbumine injection.

Mice were divided in to 5 groups consisted of 1 normal group and 4 treatment group with type I hypersensitive reaction. Group I (normal) was administered with NaCMC suspension, group II (positive control) with Na CMC suspension, group III with scopoletin with dose 1 mg/kg, group IV with scopoletin with dose 3 mg/kg and group V with scopoletin with dose 10 mg/kg. The administration of NaCMC suspension and scopoletin was directly administered when the reddish color appeared. The administration of drug preparation was performed orally (gavage). The blood was collected 24 hours after scopoletin administration by

means of *guillotine* method. The concentration of IL-4, IL-10 and IgE concentration were determined by using *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) method.

Serum examination showed that the concentration of IL-4, IL-10, and IgE after administration of scopoletin in the doses of 1, 3, and 10 mg/kg were 84.87 ± 4.87 pg/mL; 69.20 ± 13.95 pg/mL; and $54,62 \pm 7,93$ pg/mL for IL-4, 326.60 ± 33.90 pg/mL; 289.60 ± 36.82 pg/mL ; and 286.40 ± 55.86 pg/mL for IL-10, and 1032.25 ± 198.04 ng/mL; 777.25 ± 153.34 ng/mL; and $652,50 \pm 83.10$ ng/mL for IgE, respectively. One way ANOVA statistical analysis showed that scopoletin significantly decreased the levels of IL-4, IL-10 and IgE in type I hypersensitive mice. The ability of scopoletin to decrease IL-4 and IgE concentration of type I hypersensitive mice to the normal level was shown by the dose of 10 mg/kg, while the concentration of IL-10 was decreased to the normal level by the dose of 3 mg/kg.

The study concluded that scopoletin isolated from noni fruit could decrease serum levels of IL-4, IL-10 and IgE in type 1 hypersensitive mice.

RINGKASAN

PENGARUH SKOPOLETIN DARI BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP IL-4, IL-10 DAN IgE PADA MENCIT PUTIH JANTAN HIPERSENSITIVITAS TIPE I

Yufri Aldi

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat reaksi hipersensitivitas tipe I adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Hasil penelitian yang telah dilakukan khusus terhadap reaksi hipersensitivitas tipe I ternyata ekstrak etanol buah mengkudu dapat menghambat reaksi anafilaksis kutan aktif pada mencit putih jantan dan secara *in-vitro* dapat menghambat degranulasi mastosit yang tersensitisasi. Ekstrak etanol dari daunnya pada pemakaian topikal dapat menekan inflamasi. Penelitian terakhir juga diketahui ekstrak etanol buah mengkudu dapat meningkatkan titer antibodi mencit putih jantan yang diinduksi dengan sel darah merah kambing serta dapat meningkatkan jumlah sel limfosit, neutrofil batang dan sel eosinofil. Salah satu zat aktif yang terdapat di dalam ekstrak etanol buah mengkudu adalah skopoletin.

Dalam penelitian ini buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) diambil di Kelurahan Kurao Pagang, Kecamatan Nanggalo, Padang, Sumatera Barat, dan dilakukan identifikasi di Herbarium Andalas (ANDA) Universitas Andalas Padang. Buah yang sudah matang di potong tipis, biji dibuang dan dikeringkan, dijadikan serbuk. Proses isolasi senyawa skopoletin dari serbuk kering buah mengkudu sebanyak 960 g, dimulai dengan sokletasi menggunakan pelarut diklorometan. Ekstrak yang diperoleh di keringkan dan proses isolasi dilanjutkan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak campuran n-heksan dan etil asetat. Untuk memurnikan senyawa skopoletin yang diperoleh, dilakukan lagi pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam *Sephadex* LH20 dan fase gerak metanol. Senyawa skopoletin didapat sebanyak 99,9 mg dan diidentifikasi secara spektroskopi UV, IR dan pengukuran jarak lelehnya serta menentukan tingkat kemurniannya dengan menggunakan HPLC.

Untuk menjadikan mencit mengalami reaksi hipersensitivitas tipe I maka hewan tersebut disuntik secara intraperitoneal dengan ovalbumin dosis 5 mg/20 g bb. Pada hari ke tiga mencit tersebut diberi ovalbumin lagi dengan dosis 5 mg/20 g bb secara subkutan. Hewan dinyatakan hipersensitivitas tipe I jika pada hari ke tujuh setelah penyuntikan ovalbumin pada tempat penyuntikan tersebut timbul warna kemerahan.

Mencit dibagi 5 kelompok, yaitu kelompok normal dan empat kelompok mencit yang mengalami reaksi hipersensitivitas tipe I. Kelompok I (normal) diberi larutan NaCMC, kelompok II kontrol positif (larutan NaCMC), kelompok III diberi senyawa skopoletin dosis 1 mg/kg bb, kelompok IV diberi senyawa skopoletin dosis

3 mg/kg bb dan kelompok V diberi senyawa skopoletin dosis 10 mg/kg bb. Pemberian larutan NaCMC dan senyawa skopoletin langsung diberikan pada saat terlihat tanda kemerahan ditempat penyuntikan. Pemberian sediaan dilakukan peroral dengan bantuan sonde standar mencit. Darah diambil dengan metode *guillotine* setelah 24 jam pemberian senyawa skopoletin. Kadar IL-4, IL-10 dan IgE dalam serum ditentukan dengan metoda ELISA.

Hasil pemeriksaan dari serum mencit hipersensitivitas tipe I setelah pemberian senyawa skopoletin dosis 1, 3 dan 10 mg/kg bb berturut-turut untuk kadar IL-4 adalah $84,87 \pm 4,87$ pg/mL, $69,20 \pm 13,95$ pg/mL dan $54,62 \pm 7,93$ pg/mL, kadar IL-10 adalah $326,60 \pm 33,90$ pg/mL, $289,60 \pm 36,82$ pg/mL dan $286,40 \pm 55,86$ pg/mL dan kadar IgE adalah $1032,25 \pm 198,04$ ng/mL, $777,25 \pm 153,34$ ng/mL dan $652,50 \pm 83,10$ ng/mL. Hasil analisis statistik dengan analisis varian satu arah terlihat perbedaan yang sangat bermakna dari penurunan kadar IL-4, IL-10 dan IgE mencit hipersensitivitas tipe I setelah pemberian senyawa skopoletin. Kemampuan senyawa skopoletin untuk menurunkan kadar IL-4 dan IgE mencit hipersensitivitas tipe I sampai pada kadar mencit normal diberikan oleh dosis 10 mg/kg bb sedangkan untuk kadar IL-10 penurunan sampai kadar normal diberikan oleh dosis 3 mg/kg bb.

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian senyawa skopoletin dari buah mengkudu dapat menurunkan kadar IL-4, IL-10 dan IgE pada mencit yang mengalami reaksi hipersensitivitas tipe I.