



# JNPH

Volume 10 No. 1 (April 2022)

© The Author(s) 2022

## **EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN MENKUDU (MORINDA CITRIFOLIA) TERHADAP SPLENOMEGALI PADA MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI PLASMODIUM BERGHEI**

## **EFFECTS OF NONI LEAF ETHANOL EXTRACT (MORINDA CITRIFOLIA) AGAINST SPLENOMEGALY IN BALB/C MICE INFECTED WITH PLASMODIUM BERGHEI**

**JON FARIZAL, RAHMAD ABDILLAH, LENI MARLINA  
JURUSAN ANALIS KESEHATAN, POLTEKKES KEMENKES BENGKULU,  
BENGKULU, INDONESIA  
FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS ANDALAS, PADANG, INDONESIA  
Email: jonfarizal77@gmail.com, Adil.grassia72@gmail.com**

### **ABSTRAK**

Pendahuluan: Demam malaria merupakan penyakit yang masih menjadi masalah di negara berkembang. Plasmodium berghei adalah Parasit intraseluler fakultatif, maka sistem imunitas yang berperan yaitu sistem seluler. Morinda citrifolia merupakan tanaman obat tradisional yang mengandung banyak senyawa aktif yang dapat menurunkan indek splenomegali. Membuktikan efek ekstrak etanol morinda citrifolia terhadap splenomegali pada mencit Balb/c yang diinfeksi Plasmodium berghei. Metode: Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan the post test only control group design pada hewan coba mencit balb/c yang terdiri dari 24 ekor mencit jantan, dibagi menjadi 4 kelompok. (K) merupakan kelompok kontrol di beri Aquadest, dan kelompok perlakuan (P1,P2,P3) yang diberi ekstrak morinda citrifolia dengan dosis bertingkat (0,64 mg/kgBb/hari, 1,28 mg/kgBb/hari, 2,56 mg/kgBb/hari). Proses perlakuan diberikan selama 14 hari dan pada hari ke-6 diinfeksi dengan Plasmodium berghei sebanyak  $0,1 \text{ ml} \times 10^6$  secara intraperitoneal. Hari ke-14 dilakukan pembedahan isolasi limpa dilanjutkan pemeriksaan indek limpa. Data diperoleh dari penghitungan indek limpa. Uji beda untuk indek splenomegali menggunakan One Way ANOVA yang diteruskan dengan Post Hoc Test. Hasil dan Pembahasan: Ekstrak etanol Morinda citrifolia dapat menurunkan indek limpa, antara kontrol dengan perlakuan P1,P2 dan P3 mempunyai perbedaan yang signifikan, akan tetapi antar perlakuan tidak ada perbedaan yang signifikan. Kesimpulan: Ekstrak etanol Morinda citrifolia berbagai dosis dapat menurunkan indek splenomegali pada mencit Balb/c yang diinfeksi Plasmodium berghei.

**Kata Kunci: Splenomegali, Morinda citrifolia, Plasmodium berghei**

## ABSTRACT

**Intoduction:** Malaria fever is a disease that is still a problem in developing countries. *Plasmodium berghei* is a facultative intracellular parasite, so the immune system that plays a role is the cellular system. *Morinda citrifolia* is a traditional medicinal plant that contains many active compounds that can reduce the splenomegaly index. Proving the effect of *Morinda citrifolia* on splenomegaly in Balb/c mice infected with *Plasmodium berghei*. **Method:** This type of research is experimental with the post test only control group design on experimental animals balb/c mice consisting of 24 male mice, divided into 4 groups. (K) is the control group given Aquadest, and the treatment group (P1,P2,P3) given morinda citrifolia in graded doses (0.64 mg/kgBb/day, 1.28 mg/kgBb/day, 2.56 mg/kgBb/day). The treatment process was given for 14 days and on the 6th day was infected with *Plasmodium berghei* as much as 0.1 ml x 10<sup>6</sup> intraperitoneally. On the 14th day, surgical isolation of the spleen was performed followed by examination of the spleen index. Data obtained from the calculation of the spleen index. Different test for splenomegaly index using One Way ANOVA followed by Post Hoc Test. **Result and Discussion:** *Morinda citrifolia* can reduce spleen index, between the controls with P1, P2 and P3 treatments had a significant difference, but between treatments there was no significant difference. **Conclusion:** *Morinda citrifolia* in various doses can reduce the splenomegaly index in Babl/c mice infected with *Plasmodium berghei*.

**Keywords:** Splenomegaly, *Morinda citrifolia*, *Plasmodium berghei*

## PENDAHULUAN

Data *World Health Organization* pada tahun 2015 terjadi 214 juta kasus malaria dan 438.000 kematian. Sebanyak 88% kasus dan 90% kematian terjadi di Afrika, mengambil kehidupan seorang anak di bawah usia 5 tahun setiap 2 menit.

Indonesia memiliki resiko tinggi penyakit malaria dari tahun 2005-2015 sebanyak 82% kasus yang berasal dari Papua, Papua Barat, Maluku dan Maluku Utara. Kasus malaria di Provinsi Bengkulu pada tahun 2015 berdasarkan pada pemeriksaan laboratorium sebanyak 33.814 tanpa sediaan darah dan 28.333 pemeriksaan dengan sediaan darah, didapatkan 2.631 dinyatakan positif malaria, sebanyak 1.874.944 penduduk di Provinsi Bengkulu beresiko terhadap penyakit malaria dengan jenis kelamin perempuan dan laki-laki. *Anopheles* ditemukan diseluruh dunia kecuali di antartika, dan dari 430 spesies hanya 30-40 spesies yang mengirimkan malaria di alam. Infeksi malaria pada manusia dan hewan disebabkan oleh parasit *Plasmodium* yang ditularkan oleh nyamuk *Anopheles*

(mentransmisikan malaria juga pada manusia) dan menginfeksi hati setelah disuntikkan ke dalam aliran darah dengan gigitan nyamuk betina yang terinfeksi. *Plasmodium* memiliki kemampuan untuk menyebabkan malaria pada hewan, termasuk tikus (tikus). Infeksi *Plasmodium berghei* juga mempengaruhi otak dan bisa menyebabkan komplikasi serebral pada tikus laboratorium. Banyak pendekatan telah dikembangkan untuk mengendalikan ancaman nyamuk. salah satu seperti pendekatan untuk mencegah nyamuk ditanggung penyakit adalah dengan membunuh nyamuk pada tahap larva. Larvasida adalah cara sukses mengurangi populasi nyamuk di tempat-tempat mereka berkembang biak sebelum mereka muncul menjadi dewasa. Pencegahan perkembangbiakan nyamuk melalui penggunaan larvasida adalah cara yang paling efektif untuk melawan dengan *importation* nyamuk ini.

*Morinda citrifolia* (Noni) adalah satu di antara banyak obat herbal yang digunakan secara luas selama 2000 tahun terakhir. Daun mengkudu merupakan tanaman yang banyak terdapat di Indonesia yang memiliki khasiat

mampu menyembuhkan penyakit, dengan senyawa kimia yang terdapat pada daun mengkudu yaitu Pyro-phorbide a, Pheophorbide a, Purpin 7, dan Pheophorbide phypolesper<sup>8</sup>. Mekanisme *Morinda citrifolia* sebagai imunomodulator dikarenakan kandungan yang terdapat didalamnya antara lain adalah alkaloid, flavonoid, tanin, dan lain-lain. Akan tetapi, yang berperan dalam peningkatan sistem imun adalah Pyro-phorbide a dan Pheophorbide Phypolesper. Mekanisme Pyro-phorbide a dan Pheophorbide Phypolesper sebagai imunomodulator pada *Morinda citrifolia* kurang lebih sama seperti mekanisme pada tanaman yang mengandung senyawa ini, yaitu dengan meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Sel CD4<sup>+</sup> akan mempengaruhi proliferasi limfosit.

Dosis daun mengkudu yang digunakan pada penelitian ini di bagi menjadi tiga dosis bertingkat yaitu 0,64 mg/kgBB/hari peroral, 1,28 mg/kgBB/hari peroral dan 2,56 mg/kgBB/hari peroral mencit. Pemilihan dosis bertingkat ini didasarkan pada dosis penggunaan daun mengkudu di Masyarakat yang digunakan untuk pengobatan malaria. Dosis yang digunakan di Masyarakat untuk mengoabati malaria adalah 10-100 gram, kemudian dihitung dan dikonversikan kepada mencit sehingga diperoleh dosis diatas.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *The Post Test-Only Control Group* yang menggunakan hewan coba mencit Balb/c sebagai objek penelitian. Perlakuan adalah pemberian ekstrak etanol *Morinda citrifolia* dengan keluaran adalah Aktivitas fagositosis sel makrofag pada cairan peritoneum mencit Balb/c diinfeksi *plasmodium berghei*.

Populasi dan Sampel penelitian ini meliputi mencit jantan strain Balb/c yang diperoleh dari Laboratorium Farmasi Unand Padang. Populasi adalah mencit Balb/c berusia 8-10 minggu beratnya 20-30 mg. Sampel penelitian diperoleh dari populasi

dengan cara pengambilan sampel secara *simple random sampling*, kriteria inklusi dan eksklusi untuk menghindari bias dalam pelakuan diambil sebagai berikut. Kriteria Inklusi: Faktor keturunan mencit diambil dari populasi mencit yang secara genetik adalah homogen Strain Balb/c, tidak ada kelainan anatomis, sehat dan aktif selama adaptasi, dan penempatan kandang ditempatkan pada tempat yang sama di Laboratorium Imunologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.

Bahan dan Reagen Daun *Morinda citrifolia* yang diperoleh dari Rejang Lebong, Bengkulu. *Morinda citrifolia* yang digunakan adalah daun yang masih segar, *Plasmodium berghei* diambil dari Laboratorium Mitokondria dan Penyakit Infeksi Institut Riset Eijkman Jakarta, *Peritoneal Exudate Cell* (PEC) mencit jantan strain Balb/c berumur 8-10 minggu, sehat, aktivitas dan tingkah laku normal, diperoleh dari Laboratorium Imunologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas, dan Larutan *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) komplet, Bovine Serum (FBS) 10 %, alkohol 70 %, asam asetat 3 %, Latex beads, methanol absolute, Giemsa 20%, *Phosphate Buffered Saline* (PBS). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: mikroskop, *sput disposable* 1 ml, 10 ml, timbangan elektrik, objek glass, tabung reaksi, kandang hewan coba, *yellow* dan *blue tip*, incubator CO<sub>2</sub> 5%, alat-alat bedah steril, *laminar air flow*, *Elisa reader*, pipet Pasteur, pipet *Eppendorf*, bilik hitung *Neuebaeur improve*, sentrifugasi sigma 310 AK yang dilengkapi pengatur suhu, *microplate* 24 well dasar rata, *thermanox plastic coverslip* diameter 13 mm, *falcon blue max* 15 ml *poplpropylene conical tube*.

Pengambilan Sampel daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang telah dibersihkan dengan cara pencucian dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dan diserbuk hingga siap untuk di ekstraksi dengan metode maserasi. Pengolahan sampel diambil serbuk daun mengkudu sebanyak 400 gram, kemudian di maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 2 x24 jam. Simplisia yang yang

telah dimaserasi dengan larutan etanol disaring hingga di peroleh filtrat. Filtrat pelarut tersebut diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kering daun mengkudu.

Kelompok perlakuan hewan uji hewan coba dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit jantan. Kelompok I sebagai kontrol mencit hanya di beri aquades. Kelompok II di berikan ekstrak daun mengkudu dengan dosis 0,64 mg/kgbb. Kelompok III diberikan dengan dosis 1,28 mg/kgbb dan Kelompok IV diberikan dengan dosis 2,56 mg/kgbb. Pada hari ke-1 sampai ke 13 mencit diberi zat uji dan kontrol secara peroral dan hari ke-6 mencit diinfeksi *Plasmodium berghei*.

Uji Fagositosis Makrofag pada hari ke-14 diambil cairan eksudat peritoneal Mencit dibunuh dengan cara dislokasi servikal. Mencit diletakkan dalam posisi telentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan dari selubung peritoneum dengan alkohol 70% dan disuntikkan ± 10 ml RPMI dingin ke rongga peritoneum. Kemudian dидiamkan selama ± 3 menit sambil digoyang-goyang secara perlahan (agar makrofag yang menempel di rongga peritoneum dan di sekitar usus dapat terlepas dan tersuspensi dalam medium RPMI). Cairan peritoneal dikeluarkan dari rongga peritoneum dengan dilakukan penekanan organ dalam dengan 2 jari, kemudian cairan diaspirasi dengan tabung injeksi. Aspirat dipusingkan pada 1.200 rpm, 40°C selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang dan kemudian ditambahkan 3 ml medium RPMI komplit (mengandung FBS 10%). Jumlah sel dihitung dengan hemositometer, kemudian diresuspensikan dengan medium komplit sehingga didapat suspensi sel dengan kepadatan 2,5 x 10<sup>6</sup>/ml. Suspensi sel yang telah dihitung ditumbuhkan dalam *plate* 24 sumuran yang telah diberi *coverslips* bulat, setiap sumuran berisi 200 µl (5x10<sup>5</sup> sel). Sel diinkubasikan dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%, 37°C selama 30 menit, kemudian ditambahkan medium komplit 1 ml/sumuran dan inkubasi

dilanjutkan selama 2 jam. Sel dicuci dengan RPMI 2x kemudian ditambahkan medium komplit 1 ml/sumuran dan inkubasi dilanjutkan sampai 24 jam. Pemeriksaan Fagositosis Makrofag dengan *Latex Beads*, Suspensi makrofag yang telah dikultur pada *microplate* 24 wells yang telah diberi *coverslips*, setiap sumuran 200 µl (5x10<sup>5</sup>), diinkubasi dalam CO<sub>2</sub> 5% 37°C selama 30 menit. Tambahkan medium komplit 1 ml setiap sumuran, inkubasikan selama 24 jam. Makrofag yang telah dikultur sehari sebelumnya dicuci dengan RPMI 2 kali. *Latex beads* diresuspensikan sehingga didapatkan konsentrasi 10 kali lipat. Cuci 3 kali dengan PBS untuk menghilangkan partikel yang tidak difagosit. Keringkan pada suhu ruangan, fiksasi dengan methanol absolut. Setelah kering, *coverslips* dipulas dengan Giemsa 20% selama 30 menit. Cuci dengan aquadest, angkat dari sumuran kultur dan keringkan pada suhu kamar. Setelah kering di-*mounting* pada kaca objek. Kemampuan fagosit dihitung dari persentase sel yang memfagosit partikel *latex* yang kemudian dihitung pada 200 sel dikali jumlah rata-rata partikel pada sel yang positif dan dinyatakan dalam indeks fagositosis. Data hasil penelitian diolah secara statistik menggunakan Analisisn varian (ANOVA) dilanjutkan dengan uji Tukey HSD.

## HASIL PENELITIAN

**Tabel 1. Hasil Analisis rerata Indeks Splenomegali masing-masing Kelompok perlakuan**

Group	n	Mean ± SD	p
K	6	366,67 ± 49,666	
P1	6	240,00 ± 51,769	0.0001
P2	6	200,00 ± 42,895	
P3	6	140,83 ± 13,197	

Tabel 1 diketahui rerata fagositosis makrofag pada keempat kelompok menunjukkan kadar fagositosis makrofag yang meningkat seiring dengan peningkatan dosis.

**Tabel 2. Uji *Post Hoc Test* Perbedaan Indeks Indeks Splenomegali masing-masing Kelompok perlakuan**

Group	K	P1	P2	P3
K		0,000*	0,000*	0,000*
P1	0,000*		0,381	0,003*
P2	0,000*	0,381		0,105
P3	0,000*	0,003*	0,105	

Tabel 2 diketahui indeks splenomegali tampak antara kelompok kontrol (K) dengan masing-masing kelompok perlakuan P1,P2,P3 terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai  $P < 0,05$ , sedangkan antara masing-masing kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

## PEMBAHASAN

Mencit yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Laboratorium Imunologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang. Banyaknya mencit yang digunakan adalah 24 ekor, di mana tiap kelompok dibagi menjadi 6 ekor. Mencit kemudian diadaptasikan selama tujuh hari di Laboratorium Imunologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang. Mencit selama diadaptasi diberi pakan standar dan minum. Mencit yang telah diadaptasi selama tujuh hari kemudian diberi perlakuan yang terlebih dahulu ditimbang berat badannya.

Pemberian ekstrak etanol *Morinda Citrifolia* dengan dosis P1: 0,64 mg/hari, P2: 1,28 mg/hari, P3: 2,56 mg/hari diberikan selama 13 hari sebanyak dosis ekstrak dibagi dosis lazim kali berat badan sama dengan ml/hari, begitupula dengan kelompok kontrol diberi aquadest ml/hari, di mana pada hari ke 6 mencit diinfeksi *Plasmodium Berghei*. Pengamatan fisik terhadap mencit dilakukan pada hari pertama sampai hari ke 6 sebelum diinfeksi *Plasmodium Berghei* yang akan dibandingkan dengan kondisi mencit pasca diinfeksi *Plasmodium Berghei*.

Mencit pada kelompok kontrol pada penelitian hari ke 5 mati sebelum diinfeksi *Plasmodium Berghei*, ada beberapa

kemungkinan mencit tersebut mati dalam penelitian. Pertama bisa disebabkan oleh stress yang dapat menurunkan sistem imun, dimana stress ini mempengaruhi sistem imun tubuh melalui stimulasi sekresi kortisol dan adrenalin serta berpengaruh terhadap pelepasan noradrenalin dan postganglion simpatik terminal saraf di pembuluh darah dan organ limfoid. Efek sistemik dari glukokortikoid dan katekolamin ini mempengaruhi sitokin sehingga terjadi penurunan produksi sitokin yang dibutuhkan dalam menanggapi infeksi bakterial melalui respon imun seluler.

Mencit pada kelompok P3 mati selama masa penelitian pada hari ke 6 pascainfeksi. Jumlah kematian 3 ekor. Kematian mencit pada perlakuan P3 ini seharusnya dilakukan penelitian terhadap organ-organnya, misalnya hepar dan ginjal untuk menentukan mekanisme kematian yang tepat. Akan tetapi, dugaan penyebab kematian saat ini diduga kandungan resin yang terkandung dalam ekstrak etanol *Morinda Citrifolia*. Kandungan resin ini, apabila dikonsumsi terus menerus dalam dosis yang tinggi maka akan terjadi terakumulasi zat toksin resin dalam tubuh yang akan menyebabkan efek samping pada sistem saraf yang bisa menyebabkan kematian.

### 1. Indeks Splenomegali

Hasil penelitian ini adalah antara kelompok kontrol dengan perlakuan P1, perlakuan P2 dan perlakuan P3 didapatkan perbedaan yang signifikan. Selain itu pada kelompok K, P1, P2 dan P3 menunjukkan peningkatan aktivitas fagositosis makrofag sesuai dengan peningkatan dosis yaitu  $K < P1 < P2 < P3$ .

Infeksi *Plasmodium Berghei* ini mengaktifkan sistem imun seluler. Makrofag sebagai fagosit profesional, melakukan fungsi sebagai efektor, setelah sel diaktivasi oleh mikroba, sitokin dan stimulus lainnya. Pemberian ekstrak etanol *Morinda Citrifolia* mampu mengaktivasi makrofag.

Peran makrofag yang teraktivasi dalam

respon imun seluler ada 3 (1) memfagosit dan membunuh mikroba intrasel melalui produksi molekul mikrobisidal (2) menstimulasi inflamasi akut lokal (3) membersihkan jaringan mati akibat proses infeksi bakteri dan reparasi jaringan.

Pheophorbide Phypolesper dalam suatu tanaman dapat memodulasi berbagai sistem imun, Pheophorbide Phypolesper juga bersifat lipofilik yang dapat merusak membran mikroba. Pheophorbide Phypolesper ini bisa meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Sel CD4<sup>+</sup>, akan mempengaruhi proliferasi limfosit kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF, yaitu molekul-molekul termasuk IFN $\gamma$  yang dapat mengaktifkan makrofag, sehingga makrofag mengalami peningkatan metabolik, motilitas dan aktivitas fagositosis secara cepat dan lebih efisien dalam membunuh, bakteri atau mikroorganisme patogen.

## KESIMPULAN

Rerata indek splenomegali pada keempat kelompok menunjukkan penurunan seiring dengan peningkatan dosis. Pemberian ekstrak etanol *Morinda Citrifolia* berbagai dosis yang paling kuat efeknya 2,56 mg/kg BB/hari/mencit dapat menurunkan indek splenomegali pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium Berghei* dibandingkan dengan yang tidak diberi ekstrak etanol *Morinda Citrifolia*.

## SARAN

Disarankan pada penelitian selanjutnya bisa mendapatkan hasil yang lebih baik.

## DAFTAR PUSTAKA

Cancer Chemoprevention Research Center. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). 2016;1–4.  
Darlina ., Kisananto T, Fauzan A. Respons Hematopoitik Mencit Yang Diinfeksi Dengan Plasmodium berghei Stadium

Eritrositik Iradiasi Gamma. *J Sains dan Teknol Nukl Indones*. 2013;13(2):85–94.  
De Oliveira Paula S, De Sousa JA, De Brito ES, Gallão MI. The morphological characterization of the dry seeds and reserve mobilization during germination in *Morinda citrifolia* L.1. *Rev Cienc Agron*. 2016;47(3):556–63.  
Gordon P, Okai B, Hoare JI, Erwig LP, Wilson HM. SOCS3 is a modulator of human macrophage phagocytosis. *J Leukoc Biol*. 2016;100(4):771–80. Available from: <http://www.jleukbio.org/cgi/doi/10.1189/jlb.3A1215-554RR>  
Harmita, Radji M. Buku Ajar Analisis Hayati. 3rd ed. Manurung J, editor. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2010. 63-68 p.  
Innocent O, Oke O, Anthony O. Plasmodium berghei Malarial Infection Reduces Blood And Brain Glucose Levels In Experimental Mice . 2013;1(1):1–7.  
Jambou R, El-Assaad F, Combes V, Grau GE. In vitro culture of Plasmodium berghei-ANKA maintains infectivity of mouse erythrocytes inducing cerebral malaria. *Malar J*. 2011;10:2–6.  
Janse CJ, Waters AP. Plasmodium berghei: The application of cultivation and purification techniques to molecular studies of malaria parasites. *Parasitol Today*. 1995;11(4):138–Available from: <http://www.sciencedirect.com>  
Jubrail J, Kurian N, Niedergang F. Macrophage phagocytosis cracking the defect code in COPD. *Biomed J*. 2017;40(6):305–Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bj.2017.09.004>  
Kemenkes RI. profil Kesehatan Indonesia. Vol. 70, Kesehatan. 2016. 1780-1790 p.Available  
Kaur K, Chang HH, Topchyan P, Cook JM, Barkhordarian A, Eibl G, et al. Deficiencies in natural killer cell numbers, expansion, and function at the pre-neoplastic stage of pancreatic cancer by KRAS mutation in the pancreas of obese mice. *Front Immunol*. 2018;9 (Jun):1–12.

- Puti I, Sabirin R, Maskoen AM, Hernowo BS. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu ( *Morinda citrifolia* L .) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar Role of Noni (*Morinda citrifolia* L .) Leaf Ethanolic Extract Topical Application on Wound Heal. 2011;45(4):226–33. from: <http://www.depkes.go.id>
- Prevention C for DC and. Anopheles Mosquitoes. 2015;24(7):1–14.
- R. F. The incidence of environment related illnesses in North Bengkulu, Indonesia. J Environ Health [Internet]. 1994;57(1):16–8. Available from: <http://ovidsp.ovid.com>
- Ramamoorthy L, Tizard IANR. Induction of Apoptosis in a Macrophage Cell Line RAW 264.7 By Acemannan , ( 1 , 4 ) -Acetylated Mannan. 1998;421:415–21.
- Rethinam P, Pratap UP. Pharmacological properties and clinical applications of *Morinda citrifolia* L . 2015;10:1–18.
- Soe UTM, Mya D, Chaw N, Naw D, Myint H. Larvicidal efficacy of *Morinda citrifolia* L. leaf extract against three important mosquitoes. 2015;(5).
- Sundrarajan M, Bama K, Bhavani M, Jegatheeswaran S, Ambika S, Sangili A, et al. Obtaining titanium dioxide nanoparticles with spherical shape and antimicrobial properties using *M. citrifolia* leaves extract by hydrothermal method. J Photochem Photobiol B Biol. 2017;171(May):117–24.
- Weekly LS. Patents; Patent Application Titled " Method and Composition for Administering Bioactive Compounds Derived from *Morinda Citrifolia* ". 2013;1–3.
- World Health Organization. World Malaria Report 2015. Avenue Appia; 2015.
- Yildiz K, Ince AT, Gangarapu V, Bugdaci MS, Baysal B, Kayar Y, et al. Evaluation of concentrations of pro/anti-inflammatory cytokines after complication-free ECRP in cholangiocarcinoma. Turkish J Gastroenterol. 2015; 25 1):133-7.
- ZipcodeZoo. *Morinda citrifolia*. ZipcodeZoo. 2016.
- Zhang L TI. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan : the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. Immunopharmacol. 1996;35 (2) : 119–28.