

ABSTRACT

The Effect of Ethanolic Extract of Combination of *Nerium indicum* Mill and *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray to Keloid Fibroblast Proliferation with MTT Assay

Background: Keloid scars are benign dermal collagenous lesions that arise in the reticular layer of the dermis during a prolonged wound healing process characterized by hyperproliferation of fibroblasts, increase collagen deposition and high activity of keloid fibroblast cell migration. Unlike hypertrophic scars, keloids continue to grow outside the original wound margins and fail to resolve over time. Thus far, treatment of keloid is relatively limited and mostly has side effects. Natural substances that has proven to have potent anti-keloid effect are *Nerium indicum* Mill. (*N. indicum*) and *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray (*T. diversifolia*). However due to restriction of *N.indicum* use as stated in the National Agency of Drug and Food Control of the Republic of Indonesia recommendation (BPOM No. HK.00.05.23.3644), a combination with *T. diversifolia* are expected to maximize the potential and minimize the side effects. The combination has never been studied earlier to its effect on inhibiting keloid fibroblast proliferation.

Purpose: This study aims to study the effect of ethanolic extract combination of *Nerium indicum* Mill. (NiE) and *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray (TdE) in inhibition of keloid fibroblast proliferation with MTT Assay.

Method: This in vitro study uses laboratory experimental design to test eight serial concentration (200; 100; 50; 25; 12.5; 6.25; 3.125; 1.562 µg/mL) of ethanolic extract of combination of *Nerium indicum* Mill. (NiE) and *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray (TdE) within 1:9 ratio (w/w). Keloid fibroblasts cell culture viability was assessed by MTT Assay and its absorbance was read using an ELISA reader. The result is analysed using regression probit analysis to obtain 50% inhibitory concentration (IC₅₀) value.

Result and Conclusion: The combined extract of NiE+TdE (1:9, w/w) are able to inhibit keloid fibroblast proliferation in keloid fibroblast culture IC₅₀ value of 11.014 ± 0.440 µg/mL at 48 hours incubation period with MTT assay.

Keywords: *Nerium indicum*, *Tithonia diversifolia*, keloid, fibroblast proliferation

INTISARI

Efek Ekstrak Etanol dari Campuran *Nerium indicum* Mill dan *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray terhadap Proliferasi Fibroblas Keloid dengan MTT Assay

Latar Belakang: Keloid adalah lesi kulit jinak yang timbul pada lapisan retikular dermis ketika proses penyembuhan luka ditandai dengan hiperproliferasi fibroblas, deposisi kolagen yang meningkat dan tingginya aktivitas migrasi dari sel fibroblas keloid. Dibandingkan dengan bekas luka hipertrofi, keloid tumbuh melebihi batas luka asli dan tidak hilang seiring waktu. Hingga kini, pengobatan keloid masih terbatas dan memiliki banyak efek samping. Bahan alami yang terbukti berpotensi memiliki efek anti-keloid adalah *Nerium indicum* Mill. (*N. indicum*) dan *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray (*T. diversifolia*). Namun adanya restriksi penggunaan *N. indicum* pada Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM No. HK.00.05.23.3644), kombinasi dengan *T. diversifolia* diharapkan dapat memaksimalkan potensi dan meminimalkan efek samping. Efek campuran ini belum pernah diteliti sebelumnya pada penghambatan proliferasi fibroblas keloid.

Tujuan: Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji efek ekstrak etanol dari campuran *Nerium indicum* Mill. (NiE) dan *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray (TdE) dalam penghambatan proliferasi fibroblas keloid dengan metode MTT assay.

Metode: Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium untuk menguji delapan serial dosis (200; 100; 50; 25; 12.5; 6.25; 3.125; 1.562 µg/mL) dari ekstrak etanol *Nerium indicum* Mill. (NiE) dan *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray (TdE) dalam rasio 1:9 (w/w). Viabilitas sel kultur fibroblas keloid diuji dengan MTT assay dan dibaca absorbansinya dengan ELISA reader. Hasil dianalisis dengan analisis regresi probit untuk mendapatkan nilai 50% konsentrasi penghambatan (IC₅₀).

Hasil dan Kesimpulan: Kombinasi NiE+TdE (1:9, w/w) dapat menghambat proliferasi fibroblas keloid pada kultur fibroblas keloid dengan nilai IC₅₀ 11.014 ± 0.440 µg/mL pada waktu inkubasi 48 jam dengan MTT assay.

Kata kunci: *Nerium indicum*, *Tithonia diversifolia*, keloid, proliferasi fibroblas