

ABSTRACT

ANTIFIBROTIC ACTIVITY OF STANDARDIZED ETHANOLIC EXTRACT OF *NERIUM indicum* IN INHIBITION OF KELOID FIBROBLAST PROLIFERATION WITH MTT ASSAY

Background : Keloid is dense connective tissue growth that invades over the true limit of injury. Keloid is skin injury with many characteristics such as prominent lesion, fixed, itchy, painful, and does not regress spontaneously. Nowadays, there are many methods for treatment of keloid but does not give satisfactory results, often found lacking response and recurrence is still high. Many researches developed to find alternative keloid treatment for healing, minimizing the recurrence and suppressing the side effects of drugs. *Nerium indicum* has widely been researched to have anti-mitotic, anti-leukemic and anti-cancer effects. Previous research has been done by Dachlan (2015) shows the major component of *Nerium indicum* is 5 α -Oleandrin. This isolate known to have many activities for inhibiting the proliferation of keloid fibroblasts, inhibiting the migration activity of keloid fibroblasts, inhibiting collagen deposition of keloid fibroblasts and inhibiting the synthesis of TGF- β 1 keloid fibroblasts. Therefore, this research was conducted to assess whether the ethanol extract of *Nerium indicum* standardized 5 α -Oleandrin can inhibit proliferation of keloid fibroblasts by MTT Assay.

Objective : This research was conducted to assess the effects of ethanol extract of *Nerium indicum* standardized 5 α -Oleandrin in inhibition of keloid fibroblasts proliferation by MTT Assay.

Methods : This research has laboratory experimental design to assess the effects of ethanol extract of *Nerium indicum* standardized 5 α -Oleandrin in inhibition of keloid fibroblasts proliferation. Cytochemistry test was conducted to keloid fibroblasts cell culture by giving six serial concentrations of ethanol extract *Nerium indicum* standardized 5 α -Oleandrin with one incubation time (72 hours). Keloid fibroblasts cell culture viability was assessed by MTT Assay and its absorbance was read using ELISA Reader.

Results : Keloid fibroblasts cell culture proliferation inhibition percentage was gradually along with the given concentrations of ethanol extract *Nerium indicum* standardized 5 α -Oleandrin with very strong correlation ($r = 0.717$ and $p = 0.000$) at 72 hours incubation time. From the result of maceration extraction method, thick extract is about 82 grams, so that the yield of extract is 8.2 percent. From the standardization ethanol extract of *Nerium indicum* with 5 α -Oleandrin, obtained the Rf value of extract is 0.405. By using probit regression analysis obtained IC₅₀ values is 0.458 μ g / mL at 72 hours incubation time.

Conclusions : Ethanol extract of *Nerium indicum* standardized 5 α -Oleandrin can inhibit the proliferation of keloid fibroblasts culture with the IC₅₀ value of extract is 0.458 mg / mL at 72 hours incubation time.

INTISARI

AKTIVITAS ANTIFIBROTIK EKSTRAK ETANOL terstandar *NERIUM indicum* DALAM MENGHAMBAT PROLIFERASI FIBROBLAS KELOID DENGAN MTT ASSAY

Latar Belakang : Keloid merupakan pertumbuhan jaringan ikat padat yang menginvasi ke luar batas luka yang sebenarnya. Keloid merupakan lesi kulit dengan ciri-ciri lesi menonjol, terfiksasi, gatal, nyeri, dan tidak regresi spontan. Saat ini terdapat banyak metode untuk terapi keloid namun tidak memberikan hasil yang memuaskan, sering didapatkan respon yang kurang dan kekambuhan yang masih tinggi. Banyak penelitian dikembangkan untuk mencari alternatif pengobatan keloid agar dapat menyembuhkan, meminimalisir kekambuhan dan menekan efek samping obat. *Nerium indicum* banyak diteliti memiliki efek anti mitotik, anti leukemik dan anti kanker. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Dachlan (2015) memperlihatkan kandungan mayor dari *Nerium indicum* yaitu 5 α -Oleandrin. Isolat ini diketahui memiliki aktivitas untuk menghambat proliferasi fibroblas keloid, menghambat aktivitas migrasi fibroblas keloid, menghambat timbunan kolagen fibroblas keloid dan menghambat sintesis TGF- β 1 fibroblas keloid. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji apakah ekstrak Etanol *Nerium indicum* terstandar 5 α -Oleandrin dapat menghambat proliferasi fibroblas keloid dengan MTT Assay.

Tujuan : Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji efek ekstrak Etanol *Nerium indicum* terstandar 5 α -Oleandrin dalam menghambat proliferasi fibroblas keloid dengan MTT Assay.

Metode Penelitian : Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium untuk menguji ekstrak Etanol *Nerium indicum* terstandar 5 α -Oleandrin dalam menghambat proliferasi fibroblas keloid. Uji sitokimia dilakukan pada kultur sel fibroblas keloid dengan pemberian enam serial konsentrasi ekstrak etanol *Nerium indicum* terstandar 5 α -Oleandrin dengan satu waktu inkubasi (72 jam). Viabilitas kultur sel fibroblas keloid diuji dengan MTT Assay dan dibaca absorbansinya dengan menggunakan *ELISA Reader*.

Hasil : Persentase penghambatan proliferasi kultur sel fibroblas keloid meningkat seiring dengan besarnya konsentrasi ekstrak etanol *Nerium indicum* yang diberikan, dengan nilai korelasi yang sangat kuat ($r=0,717$ dan $p=0,000$) pada waktu inkubasi 72 jam. Dari hasil ekstraksi metode maserasi diperoleh ekstrak kental sekitar 82 gram, sehingga rendemen ekstraknya 8,2 persen. Dari standarisasi ekstrak etanol *Nerium indicum* dengan 5 α -Oleandrin didapatkan nilai R_f ekstrak yaitu 0,405. Dengan menggunakan analisis regresi probit didapatkan nilai IC_{50} yaitu 0,458 μ g/mL pada waktu inkubasi 72 jam.

Kesimpulan : Ekstrak Etanol *Nerium indicum* terstandar 5 α -Oleandrin dapat menghambat proliferasi kultur fibroblas keloid dengan nilai IC_{50} ekstrak yaitu 0,458 μ g/mL pada waktu inkubasi 72 jam.