

ABSTRAK

Latar Belakang

Keloid merupakan tumor jinak fibroproliferatif dermis dengan ciri proliferasi fibroblas, sintesis kolagen dan aktivitas migrasi yang berlebihan. Secara umum karakteristik fibroblas keloid mirip dengan sel kanker. Berbagai usaha penatalaksanaan kasus keloid sudah dilakukan namun hasilnya belum memuaskan. 5 α -oleandrin merupakan senyawa terpenoid diisolasi dari daun *Nerium indicum*, aktif meningkatkan apoptosis pada sel HeLa dan sitotoksik terhadap sel kanker payudara (MCF-7). Pengembangan senyawa 5 α -oleandrin untuk alternatif terapi keloid perlu dilakukan. Tujuan penelitian ialah untuk mengkaji apakah aktivitas 5 α -oleandrin dapat digunakan sebagai obat antikeloid.

Metode

Subyek penelitian ini adalah biakan lapis tunggal fibroblas preputium dan fibroblas keloid pasase ke-3 yang diperoleh dari biakan primer fibroblas dermis secara eksplan. Proliferasi fibroblas diukur dengan *MTT-assay*, aktivitas migrasi diukur dengan *scratch assay*, timbunan kolagen diukur dengan *Sirius Red Assay*, dan kadar TGF- β 1 diukur dengan ELISA. Dengan menggunakan rancangan eksperimen kuasi berpasangan, dibandingkan kemampuan proliferasi fibroblas, migrasi fibroblas, timbunan kolagen, dan kadar TGF- β 1 antara fibroblas yang diterapi dengan medium lengkap, 5 α -oleandrin, dan mitomisin C. Perbedaan berbagai variabel dianalisis dengan *one-way ANOVA*.

Hasil

Hasil menunjukkan bahwa 5 α -oleandrin pada dosis 0,9375 nM, dan 15 nM dapat secara bermakna menurunkan proliferasi fibroblas keloid dibandingkan dengan medium ($P < 0,05$). Paparan dengan 5 α -oleandrin dapat menurunkan aktivitas migrasi pada fibroblas keloid ($P < 0,05$). Penurunan terbesar didapatkan pada dosis tertinggi 15 nM. Didapatkan timbunan kolagen yang lebih rendah pada fibroblas keloid dengan 5 α -oleandrin daripada dalam medium ($P < 0,05$). Timbunan kolagen terendah didapatkan pada pemberian 5 α -oleandrin dosis 15 nM. Paparan 5 α -oleandrin berbagai dosis (0,9375 nM, 1,875 nM, 3,75 nM, dan 15 nM) pada fibroblas keloid dapat menurunkan kadar TGF- β 1 secara bermakna dibandingkan dengan medium kontrol ($P < 0,05$).

5 α -oleandrin pada dosis 15 nM lebih kuat dalam menghambat proliferasi fibroblas keloid dibandingkan dengan mitomicin C ($P < 0,05$). Pada dosis yang sama, 5 α -oleandrin menunjukkan penurunan aktivitas migrasi fibroblas keloid yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian mitomicin C ($P < 0,05$). 5 α -oleandrin memiliki efek yang lebih baik dalam menurunkan timbunan kolagen pada fibroblas keloid dibandingkan mitomisin C ($P < 0,05$). Pemberian berbagai dosis antara 5 α -oleandrin dan mitomisin C pada fibroblas keloid tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dalam menurunkan sintesis TGF- β 1 fibroblas keloid. 5 α -oleandrin berefek sitotoksik pada fibroblas normal dengan nilai IC₅₀ 278,6 nM dan pada fibroblas keloid dengan nilai IC₅₀ 41,04 nM. Mitomisin C berefek sitotoksik pada

fibroblas normal dengan IC50 175, 6 nM dan pada fibroblas keloid dengan nilai IC50 306,3 nM.

Kesimpulan

5 α -oleandrin dapat menghambat proliferasi, migrasi, timbunan kolagen, dan sintesis TGF- β 1 pada fibroblas keloid. Hambatan aktivitas proliferasi, migrasi, timbunan kolagen pada 5 α -oleandrin lebih besar dibandingkan dengan mitomisin C. Hambatan sintesis TGF- β 5 α -oleandrin tidak berbeda jika dibandingkan dengan mitomisin C. 5 α -oleandrin bersifat lebih sitotoksik terhadap fibroblas keloid dan efek sitotoksiknya lebih besar dibandingkan dengan mitomisin C. Namun pada fibroblas normal, 5 α -oleandrin bersifat kurang sitotoksik sehingga lebih aman daripada mitomisin C.

Kata kunci: *Nerium*, 5 α -oleandrin, mitomisin C, fibroblas keloid, proliferasi fibroblas, migrasi fibroblas, timbunan kolagen, TGF- β 1.

ABSTRACT

Background

Keloids is benign dermal fibroproliferatif tumors characterized by hyperproliferation of fibroblasts, increase collagen synthesis and high activity of keloid fibroblast cell migration. Several keloids management efforts have been done but the results are not satisfied yet. 5 α -oleandrin is a terpenoid compounds isolated from leaves of *Nerium indicum* actively promotes the apoptosis in HeLa cells and cytotoxic against breast cancer cells (MCF-7). The development of 5 α -oleandrin compounds for keloid alternative therapy is still questionable.

Methods

Passage 3rd of monolayer normal fibroblast and keloid fibroblast from primary explant technique will be used as the experimental subjects. Fibroblast proliferation will be measured with MTT assay, collagen deposition with Sirius Red Assay, fibroblast migration with scratch assay, and TGF- β 1 synthesis with ELISA. By using a quasi experimental design, fibroblast proliferation, collagen deposition, fibroblast migration and TGF- β 1 synthesis will be compared between groups treated with control medium, 5 α -oleandrin, and mitomycin C. The difference among those various groups will be analyzed with one way ANOVA.

Results

The results showed that 5 α -oleandrin (0.9375 nM and 15 nM) significantly decreased the proliferation of keloid fibroblast compare to medium (P<0.05). Migration activity of both keloid and normal fibroblast were inhibited by 5 α -oleandrin (P<0.05). Collagen deposition of keloid fibroblast was inhibited by 5 α -oleandrin. The amount of TGF- β 1 on keloid fibroblast was significantly inhibited by all dosages of 5 α -oleandrin (P<0.05).

5 α -oleandrin (15nM) had stronger proliferation inhibition activity than mitomycin C on keloid fibroblast (P<0.05). In the same dosage, 5 α -oleandrin showed greater migration inhibition activity than mitomycin C on keloid fibroblast (P<0.05). 5 α -oleandrin has stronger inhibition activity of collagen deposition than mitomycin C on keloid fibroblast (P<0.05). However, there was no difference effect of 5 α -oleandrin and mitomycin C on TGF- β 1 concentration of keloid fibroblast. The cytotoxic analysis demonstrated that IC₅₀ value of 5 α -oleandrin on normal and keloid fibroblast were 278.6 nM and 41.04 nM, consecutively. Mitomycin C had IC₅₀ value on normal and keloid fibroblast are 175.6 nM and 306.3 nM, respectively.

Conclusion

It is concluded that 5 α -oleandrin has antikeloid activity by inhibiting keloid fibroblast proliferation, fibroblast migration, collagen deposition, and TGF- β 1 synthesis. The antikeloid activity of 5 α -oleandrin is stronger than that of mitomycin C except in TGF- β 1 synthesis. The cytotoxic effect on keloid fibroblast of 5 α -

oleandrin is greater than that of mitomycin C. However, 5α-oleandrin is less toxic than mitomycin C on normal fibroblast.

Key words : *Nerium*, 5α-oleandrin, mitomycin C, keloid fibroblast, fibroblast proliferation, fibroblast migration, collagen deposition, TGF-β1.