

Research Article

EFFECT OF KECEMCEM (*Spondias pinnata*) EXTRACT ON ANGIOGENESIS OF GINGIVA AFTER CURETASE OF WISTAR RATS

¹Eka Pramudita Ramadhany, ¹Media Sukmalia Adibah, ²I Ketut Suandika Dharma Yanta

¹Periodontia Department, Faculty of Medicine, Universitas Udayana, Badung, Indonesia

²Undergraduate Program, Faculty of Medicine, Universitas Udayana, Badung, Indonesia

Received date: June 9, 2023 Accepted date: April 2, 2024 Published date: April 21, 2024

KEYWORDS

Angiogenesis, beta-sitosterol, curettage, *Spondias pinnata*



DOI : 10.46862/interdental.v20i1.6674

ABSTRACT

Background: Curettage procedure cause wounds that require adjuvant therapy. One of adjuvant therapies used is hyaluronic acid. However, recently, several studies have focused on antioxidant and anti-inflammatory properties of various natural products such as the bark of kecemcem tree (*Spondias pinnata*) which has protective effect against oxidative and inflammatory changes occurs during development of mucositis. Based on this, researchers were interested examining effect of giving kecemcem bark extract on formation of new blood vessels (angiogenesis) in gingiva after curettage.

Materials and Methods: Wistar rats were divided into 3 groups, negative control, positive control, and treatment group. Previously, rats had induced periodontal pockets by tying silk threads on mandibular incisors and after that they were curettage using a gracey curette. Negative control group was given CMC-Na, positive control group was given hyaluronic acid and treatment group was given 70% kecemcem bark extract gel. Rats were sacrificed on day 3, 5 and 7 and then histological preparations were made.

Results and discussion: Average number of new blood vessels in the treatment group was higher than control group and positive control with two-way ANOVA test showed that average number of new blood vessels in each group had significant difference ($p < 0.05$). This supports hypothesis that compounds found in the bark of the kecemcem tree such as beta-sitosterol, phenols, and flavonoids have effect on increasing angiogenesis in gingival wounds after curettage of Wistar rats.

Conclusion: 70% kecemcem bark extract gel has effect on increasing angiogenesis in gingival wounds after curettage of Wistar rats.

Corresponding Author:

Eka Pramudita Ramadhany
Periodontia Department, Faculty of Medicine, Universitas Udayana
Badung, Indonesia
e-mail address: ditaramadhany@unud.ac.id

How to cite this article: Ramadhany EP, Adibah MS, Yanta IKSD. (2024). EFFECT OF KECEMCEM (*Spondias pinnata*) EXTRACT ON ANGIOGENESIS OF GINGIVA AFTER CURETASE OF WISTAR RATS. *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi* 20(1), 40-45. DOI: 10.46862/interdental.v20i1.6674

Copyright: ©2024 Eka Pramudita Ramadhany This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License. Authors hold the copyright without restrictions and retain publishing rights without restrictions.

PENGARUH EKSTRAK KULIT POHON KECEMCEM (*Spondias pinnata*) TERHADAP ANGIOGENESIS GINGIVA PASCA KURETASE TIKUS WISTAR

ABSTRAK

Latar Belakang: Prosedur kuretase akan menimbulkan luka yang memerlukan terapi adjuvan. Salah satu terapi adjuvan yang digunakan adalah asam hialuronat. Namun akhir-akhir ini, beberapa penelitian ilmiah telah berfokus pada sifat antioksidan dan anti-inflamasi dari berbagai produk alami seperti kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) yang memiliki efek protektif terhadap perubahan oksidatif dan inflamasi yang terjadi selama perkembangan mukositis. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) terhadap pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) pada gingiva pasca kuretase.

Bahan dan Metode: Tikus wistar dibagi menjadi 3 kelompok yaitu, kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan. Sebelumnya, tikus telah diinduksi poket periodontal dengan mengikat benang silk pada gigi insisivus mandibula dan setelah itu dikuretase menggunakan kuret gracey. Kelompok kontrol negatif diberikan CMC-Na 2%, kelompok kontrol positif diberikan asam hialuronat 2% dan kelompok perlakuan diberikan gel ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) konsentrasi 70%. Tikus dikorbankan pada hari ke-3, 5 dan 7 kemudian dibuat preparat histologinya.

Hasil dan Pembahasan: Rata-rata jumlah pembuluh darah pada kelompok perlakuan lebih tinggi (72,33) daripada kelompok kontrol negatif (56,11) dan kontrol positif (69,77) dengan uji two-way ANOVA menunjukkan rata-rata jumlah pembuluh darah baru pada masing-masing kelompok memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai signifikansi 0,001 ($p < 0.05$). Hal ini mendukung hipotesis bahwa senyawa-senyawa yang terdapat pada kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) memiliki pengaruh dalam meningkatkan jumlah pembuluh darah baru pada luka gingiva pasca kuretase tikus wistar.

Simpulan: Gel ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) 70% memiliki pengaruh dalam meningkatkan pembentukan pembuluh darah (angiogenesis) baru pada luka gingiva pasca kuretase tikus wistar.

KATA KUNCI: *Angiogenesis, beta-sitosterol, kuretase, Spondias pinnata*

PENDAHULUAN

Gingivitis dan periodontitis merupakan salah satu kondisi patologis yang melibatkan jaringan periodontal termasuk juga gingiva. Prevalensi terjadinya gingivitis dan periodontitis sekitar 20-50% dari populasi di seluruh dunia.¹ Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar tahun 2018, persentase penduduk Indonesia yang mempunyai masalah periodontal termasuk gingivitis dan periodontitis sebesar 14%.² Gingivitis dan periodontitis merupakan kondisi yang saling berhubungan, dimana periodontitis merupakan tahap kronis saat gingivitis tidak disembuhkan. Pada saat gingiva berada pada fase *advance gingivitis* dan mulai memasuki fase *mild periodontitis*, terjadi kehilangan perlekatan antara gingiva dengan struktur gigi sehingga menyebabkan terbentuknya poket periodontal. Salah satu tindakan yang bisa dilakukan untuk eliminasi poket periodontal adalah kuretase.^{3,4}

Kuretase menimbulkan luka pada gingiva dengan tampilan klinis permukaan yang tampak cerah dan berdarah.⁵ Secara fisiologis, tubuh akan menginisiasi

proses angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru pasca terjadinya luka untuk membantu suplai nutrisi dan oksigen, serta menghilangkan jaringan yang mengalami nekrosis.⁶ Penyembuhan luka gingiva pasca kuretase berpotensi menyebabkan progresi inflamasi yang ekstensif karena terjadi di lingkungan tinggi bakteri sehingga diperlukan terapi adjuvan untuk membantu menyembuhkan luka, mengurangi waktu penyembuhan, dan meningkatkan hasil namun tidak boleh digunakan sebagai pengganti terapi konservatif.⁷ Salah satu terapi adjuvan yang digunakan untuk membantu penyembuhan luka rongga mulut adalah produk dengan kandungan asam hialuronat.⁸

Namun, baru-baru ini beberapa penelitian ilmiah telah berfokus pada sifat antioksidan dan anti-inflamasi dari berbagai produk alami baik yang berasal dari tumbuhan atau dari hewan.⁷ Berdasarkan penelitian Kusumaningrum dkk, penambahan gel bahan alami berupa propolis 10% mampu mempercepat proses penyembuhan luka pada gingiva pasca kuretase dilihat dari indikator

angiogenesis.⁹ Sedangkan pada penelitian Marathe dkk ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) memiliki efek protektif terhadap perubahan oksidatif dan inflamasi yang terjadi selama perkembangan mukositis.¹⁰

Berdasarkan penelitian Marathe dkk tersebut, kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) juga memiliki potensi dalam penyembuhan luka rongga mulut. *Spondias pinnata* merupakan tanaman tropis yang umum ditemukan di Malaysia, India, dan Indonesia. Setiap struktur dari tumbuhan ini telah digunakan sejak dahulu dalam pengobatan tradisional di Indonesia dan India dalam menyembuhkan berbagai penyakit. Pada kulit pohon kecemcem, terdapat kandungan antioksidan seperti flavonoid, fenol, beta-sitosterol serta beberapa agen anti-inflamasi yang mampu membantu dalam penyembuhan luka.¹¹ Penelitian terkini telah menunjukkan bahwa ekstrak metanol 70% dari kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) merupakan sumber potensial antioksidan alami.¹²

Berdasarkan kandungan-kandungan tersebut, kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) berpotensi menjadi terapi adjuvan pada penyembuhan gingiva pasca kuretase tetapi belum pernah dilakukan pengujian ilmiah sehingga peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) terhadap pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) gingiva pasca kuretase.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian *randomized post test only control group design* yang dilaksanakan pada bulan Januari 2022 – April 2022 di Laboratorium Fitokimia, Farmakologi, Histologi, dan Rumah Sakit Hewan Universitas Udayana. Uji identifikasi (BRIN) dan fitokimia telah dilakukan untuk memastikan bahwa kulit pohon yang digunakan benar berasal dari spesies pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) dan mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan beta-sitosterol. Ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) kemudian dibuat dengan metode maserasi pada suhu ruangan. Pertama-tama kulit pohon kecemcem yang telah dipisahkan dari batangnya dipotong kecil-kecil, dicuci, dikeringkan, dan dihancurkan serta disaring hingga

berbentuk bubuk halus. Bubuk kulit pohon kecemcem direndam dengan etanol 96% dan diaduk selama 30 menit menggunakan *homogenizer* (*Chimarec+TM, Thermoscientific*) lalu didiamkan selama 1 hari. Kemudian, campuran difiltrasi dengan corong *buchner* dan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan dievaporasi di dalam *vacuum rotary evaporator* dan *water bath* (N-1200B, *Eyela*) dengan suhu 70°C sampai didapatkan ekstrak viskositas tinggi. Sediaan gel dibuat dengan mencampurkan setiap 7 ml ekstrak kulit pohon kecemcem dengan 3 ml CMC-Na (natrium karboksimetil selulosa) 2% sehingga didapatkan gel ekstrak kulit pohon kecemcem konsentrasi 70 %.

Sampel penelitian sebanyak 36 ekor tikus wistar dipilih secara random dengan jumlah sampel ditentukan dengan rumus Federer. Tikus wistar diadaptasikan di dalam kandang selama 7 hari. Tikus wistar dikelompokkan menjadi 3 yaitu kelompok perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif yang masing-masing berjumlah 12 ekor. Induksi poket periodontal dilakukan pada gingiva mandibula tikus wistar. Induksi dilakukan dengan mengikat benang silk 3,0 (*OneMed*) di daerah subgingiva gigi insisivus anterior mandibula kemudian dijahit pada mukosa area mesial, distal, dan bukal. Setelah 1 minggu, ligasi dilepaskan. Tikus wistar kemudian dikuret menggunakan *curette gracey* (no 1-2, *Shen San*) pada sulkus gingiva labial mandibula. Pada kelompok perlakuan diaplikasikan gel ekstrak kulit pohon kecemcem 70%, kontrol positif diaplikasikan gel asam hialuronat 2% (*Gengigel, Ricerfarma*) dan pada kontrol negatif diaplikasikan CMC-Na 2% pada sulkus gingiva yang di kuret sebanyak 0,05 ml pada pagi dan sore (2 kali/sehari). Pengorbanan tikus dilakukan dengan memberikan dosis ketamin (*DutchFarm*) berlebih (75 mg/kg BB) secara injeksi intraperitoneal di hari ke-3, 5 dan 7. Dekaputasi dilakukan pada gingiva yang dikuretase menggunakan gunting untuk dibuat sediaan histologi. Pengamatan sediaan histologis dilakukan dengan mikroskop cahaya (*Olympus CX23*) dengan pembesaran 400x pada 3 lapang pandang.

Analisis data menggunakan software SPSS *for windows*. Uji normalitas dan homogenitas dilakukan

terlebih dahulu menggunakan uji *Saphiro-Wilk* (uji normalitas) dan *Levene Test* (uji homogenitas). Uji bivariat berupa uji *Two-way ANOVA* digunakan dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD (Least Square Differences)*.

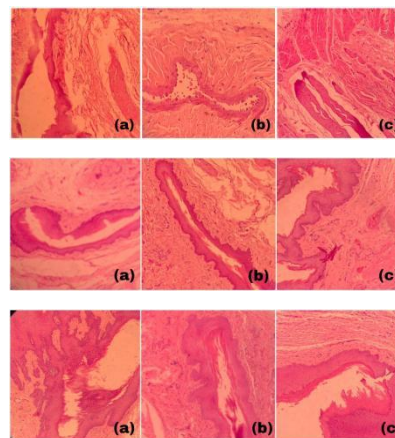
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, rata-rata jumlah pembuluh darah baru terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif hari-3 sebanyak 49,67 dan tertinggi terdapat pada kelompok kontrol positif hari ke-7 sebanyak 81,33 (tabel 1). Analisis deskriptif juga menunjukkan bahwa nilai rata-rata jumlah pembuluh darah baru eutanasia hari ke-3, 5, dan 7 pada kelompok perlakuan memiliki nilai yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol negatif dan positif yaitu sebesar 72,33 (tabel 1). Hal ini mendukung hipotesis bahwa senyawa-senyawa yang terdapat pada kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) memiliki pengaruh dalam meningkatkan jumlah pembuluh darah baru pada luka gingiva pasca kuretase tikus wistar.^{13,14} Berdasarkan penelitian oleh Sayeed dkk pada tahun 2016 menunjukkan bahwa beta-sitosterol dapat mengurangi sekresi sitokin pro-inflamasi, TNF- α serta edema dan meningkatkan sitokin anti-inflamasi sehingga berperan dalam pembentukan pembuluh darah.¹⁵

Tabel 1. Nilai rerata dan standar deviasi jumlah angiogenesis pada tiap kelompok

Kelompok	Hari	Rerata	Standar deviasi	N
K-	3	49,67	4,509	3
	5	53,67	4,933	3
	7	65,00	2,000	3
	Total	56,11	7,720	3
K+	3	57,00	5,000	3
	5	71,00	2,645	3
	7	81,33	3,055	3
	Total	69,77	11,054	3
P	3	64,00	3,605	3
	5	75,33	3,055	3
	7	77,67	2,516	3
	Total	72,33	6,873	3

Ket: K- (CMC-Na 2%, kontrol negatif), K+ (asam hialuronat 2% , kontrol positif), P (gel ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*), kelompok perlakuan), N (jumlah sampel)



Gambar 1. Gambaran histologi pembuluh darah baru (a) kelompok kontrol negatif, (b) kelompok kontrol positif, dan (c) kelompok perlakuan, kiri atas (eutanasia hari ke-3), kanan atas (eutanasia hari ke-5), bawah (eutanasia hari ke-7)

Berdasarkan uji ANOVA, rata-rata jumlah pembuluh darah baru terhadap kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan yaitu sebesar 0,001 ($p < 0,05$) (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak kulit kecemcem (*Spondias pinnata*) memiliki pengaruh dalam pembentukan pembuluh darah baru pada luka gingiva pasca kuretase tikus wistar. Selain itu, berdasarkan uji bivariat juga menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata jumlah pembuluh darah baru terhadap hari eutanasia yaitu sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Berdasarkan hal tersebut, hari eutanasia juga memberikan pengaruh pada pembentukan pembuluh darah baru pada luka gingiva pasca kuretase tikus wistar pada semua kelompok perlakuan. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Marathe dkk pada tahun 2021 yang menunjukkan bahwa gel ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) memiliki pengaruh dalam penyembuhan mukositis karena efek protektif terhadap perubahan oksidatif dan inflamasi.¹⁰

Tabel 2. Hasil uji *Two Way ANOVA*

Kelompok	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	1369,407	2	684,704	8,968	0,001
Hari	1595,111	6	265,852	20,163	0,000

Analisis *post hoc* LSD antar kelompok pada hari eutanasia ke-3 (Tabel 3) menunjukkan perbedaaan yang signifikan antara kontrol negatif dengan kontrol positif, kontrol positif dengan perlakuan, dan perlakuan dengan kontrol negatif. Berdasarkan hal tersebut bisa disimpulkan bahwa pengaruh gel ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) dalam meningkatkan rata-rata jumlah pembuluh darah baru pada hari ke-3 lebih baik daripada asam hialuronat 2 % dan CMC-Na. Hal ini sejalan dengan penelitian Hassan dkk tahun 2021 mengenai aplikasi topikal MEBO yang mengandung beta sitosterol dan gel asam hialuronat 0,2% pada luka palatal setelah pengambilan FGG dimana pada kelompok yang diberikan MEBO, terjadi penurunan ukuran luka yang signifikan dari hari ke 0 dan hari ke 3. Sedangkan pada kelompok yang diberi asam hialuronat 2 % tidak terdapat perbedaan

ukuran luka yang signifikan antara hari ke 0, hari ke 3, dan hari ke 7 namun pada hari ke 14 dan ke 21 terjadi penurunan yang signifikan.¹⁶

Berbeda dengan kelompok eutanasia hari ke-3, kelompok pada hari eutanasia ke-5 (tabel 3), menunjukkan perbedaan jumlah pembuluh darah baru yang tidak signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan perlakuan. Hal ini meunjukkan bahwa pengaruh antara asam hialuronat 2 % dengan ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) 70 % secara statistik setara atau tidak ada perbedaan dalam meningkatkan jumlah pembuluh darah baru. Hal serupa juga ditemukan pada hasil analisis *post hoc* LSD antar kelompok pada hari eutanasia ke-7 (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil uji *Post Hoc* LSD

	K-(3)	K-(5)	K-(7)	K+(3)	K+(5)	K+(7)	P (3)	P (5)	P (7)
K-(3)		0,194	0,000*	0,024*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K-(5)			0,001*	0,276	0,000*	0,000*	0,003*	0,000*	0,000*
K-(7)				0,015*	0,058	0,000*	0,740	0,003*	0,000*
K+(3)					0,000*	0,000*	0,030*	0,000*	0,000*
K+(5)						0,003*	0,030*	0,161	0,037*
K+(7)							0,000*	0,058	0,232
P(3)								0,001*	0,000*
P(5)									0,442
P(7)									

Ket: K-(kontrol negatif), K+ (kontrol positif), P (perlakuan), 3 (hari ketiga), 5 (hari kelima), 7 hari ketujuh), * (nilai signifikan)

Berbeda dengan kelompok eutanasia hari ke-3, kelompok pada hari eutanasia ke-5 (tabel 3), menunjukkan perbedaan jumlah pembuluh darah baru yang tidak signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan perlakuan. Hal ini meunjukkan bahwa pengaruh antara asam hialuronat 2 % dengan ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) 70 % secara statistik setara atau tidak ada perbedaan dalam meningkatkan jumlah pembuluh darah baru. Hal serupa juga ditemukan pada hasil analisis *post hoc* LSD antar kelompok pada hari eutanasia ke-7 (Tabel 3).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak kulit pohon kecemcem (*Spondias pinnata*) memiliki pengaruh dalam meningkatkan pangiogenesis pada gingiva pasca kuretase tikus wistar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa, keluarga penulis dan seluruh pihak yang memberikan dukungan serta kontribusinya dalam penyelesaian artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International journal of health sciences* 2017; 11(2), 72-80.
2. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar. 2018. <https://www.kemkes.go.id/resources/download/info-terkini/hasil-risikesdas-2018.pdf> [diakses pada 3 Juni 2022).
3. Reddy S. *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics 5th Edition*. Jaypee Brothers New Delhi: Medical Publishers; 2018.
4. Gehrig JS, Shin DE, Willmann DE. *Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist, Enhanced*. Massachusetts: Jones & Bartlett Learning; 2020.
5. Peeran SW, Ramalingam K. *Essentials of Periodontics & Oral Implantology*. India: Saranraj JPS Publication; 2021.
6. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res* 2019; 37(5): 1528-42. Doi: <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>
7. Murgia MS, Meuli M, Mannu C, Casu C. New Enzymatic Gel as Adjuvant Treatment for Wound Healing Processes in Oral Surgery, a Mini-Review and a Case Report. *Sch J Med Case Rep* 2021; 9(1): 55-60. Doi: <http://dx.doi.org/10.36347/sjmcrr.2021.v09i01.015>
8. Gupta S, Kedige SD, Gupta A, Jain K. Evaluation of Gengigel® application in the management of furcation with coronally advanced flap through surgical re-entry-A split mouth clinical study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR* 2017; 11(1):ZC27-ZC32. Doi: <https://doi.org/10.7860/jcdr/2017/21938.9169>
9. Kusumaningrum E, Suryono S, Rahman EF. Pengaruh Pemberian Topikal Gel Propolis 10% dan Fototerapi Near Infrared Pada Penyembuhan Luka Pasca Kuretase Studi terhadap Tikus Sprague dawley Ditinjau dari Jumlah Pembuluh Darah Baru (Angiogenesis). *Prosiding pada Konstelasi Ilmiah Mahasiswa Unissula (KIMU) Klaster Kesehatan*; 19 Januari 2022; Semarang, Indonesia
10. Marathe A, Rao GM, Chakrapani M. *Spondias pinnata* bark extract-an ameliorator of inflammatory derangement in etoposide induced mucositis: An experimental approach. *Veterinary World* 2021; 14(7):1822-28. Doi: www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.1822-1828
11. Laksemi DAS. Biological activity of *Spondias pinnata*: a review *Indonesia J Biomed Sci* 2019; 13(2):88-93. Doi: <http://dx.doi.org/10.15562/ijbs.v13i2.218>
12. Hazra B, Biswas S, Mandal N. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC complementary and Alternative Medicine* 2008; 9(8):63. Doi: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-8-63>
13. Alexandru V, Gaspar A, Savin S, Toma A, Tatia R, Gille E. Phenolic content, antioxidant activity and effect on collagen synthesis of a traditional wound healing polyherbal formula. *Studia Universitatis "Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)* 2015; 25(1): 41-46.
14. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science* 2016; 5:e47. doi: <https://doi.org/10.1017%2Fjns.2016.41>
15. Sayeed MS, Karim SMR, Sharmin T, Morshed MM. Critical analysis on characterization, systemic effect, and therapeutic potential of beta-sitosterol: a plant-derived orphan phytosterol. *Medicines* 2016; 3(4): 1-25. Doi: <https://doi.org/10.3390/medicines3040029>
16. Hassan A, Ahmed E, Ghalwash D, Elarab AE. Clinical comparison of MEBO and hyaluronic acid gel in the management of pain after free gingival graft harvesting: a randomized clinical trial. *International Journal of Dentistry* 2021; 2021:2548665. Doi: <https://doi.org/10.1155/2021/2548665>