



Indonesian Dental Association

Journal of Indonesian Dental Association

<http://jurnal.pdgi.or.id/index.php/jida>
ISSN: 2621-6183 (Print); ISSN: 2621-6175 (Online)



Research Article

Effects of *Clinacanthus nutans* and *Aloe vera* Extracts on bFGF Synthesis in Fibroblasts

Rezky Anggraeni¹, Moehamad Orliando Roeslan^{1§}

¹ Department of Biology Oral, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

Received date: November 2, 2021. Accepted date: February 15, 2022. Published date: May 17, 2022.

KEYWORDS

Clinacanthus nutans;
Aloe vera;
bFGF;
fibroblast

ABSTRACT

Introduction: Wound healing is an important but complicated process, containing a multifaceted process. The growth factor involved in the wound healing process is basic fibroblast growth factor (bFGF). *Clinacanthus nutans* (*C. nutans*) and *A. vera* are traditional plants that have the ability to induce fibroblast migration. However, no study has yet compared the effects of *C. nutans* and *A. vera* on bFGF protein synthesis associated with wound healing.

Objective: The aim of this study was to evaluate the effect of extracts of *C. nutans* and *A. vera* on the fibroblast synthesis of bFGF in fibroblasts. **Method:** *Clinacanthus nutans* leaf powder was extracted using a solution of hexane and chloroform sequentially. While the *A. vera* gel is taken. Fibroblasts were treated with several concentrations (10, 50, and 100 µg/mL) within 24 hours. Synthesis of bFGF protein was tested using enzyme linked immunoabsorbent assay (ELISA). **Result:** The chloroform extract of *C. nutans* and *A. vera* up regulated the synthesis of bFGF. Concentration of 10 µg/mL *C. nutans* showed the highest bFGF protein synthesis compared to other treatment groups. **Conclusion:** Chloroform extract of *C. nutans* and *A. vera* can up regulated the synthesis of bFGF in fibroblasts.

[§] Corresponding Author

E-mail address: orliando.roeslan@trisakti.ac.id (Roeslan MO)

DOI: [10.32793/jida.v5i1.726](https://doi.org/10.32793/jida.v5i1.726)

Copyright: ©2022 Anggraeni R, Roeslan MO. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium provided the original author and sources are credited.

KATA KUNCI

Clinacanthus nutans;
Aloe vera;
bFGF;
fibroblas

ABSTRAK

Pendahuluan: Penyembuhan luka adalah proses penting namun rumit, yang terdiri dari beberapa fase penyembuhan. Faktor pertumbuhan yang berhubungan dengan proses penyembuhan luka adalah, *basic fibroblast growth factor* (bFGF). *Clinacanthus nutans* (*C. nutans*) dan *Aloe vera* (*A. vera*) adalah tumbuhan tradisional yang memiliki kemampuan untuk menginduksi migrasi fibroblas. Namun, belum ada penelitian yang telah membandingkan efek *C. nutans* dan *A. vera* terhadap sintesis protein bFGF yang berhubungan dengan luka penyembuhan. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak *C. nutans* dan *A. vera* terhadap sintesis bFGF pada fibroblas. **Metode:** Bubuk daun *C. nutans* di ekstraksi menggunakan larutan heksana dan kloroform secara berurutan. Sedangkan *A. vera* diambil gel nya. Fibroblas diberi perlakuan dengan beberapa konsentrasi (10, 50, dan 100 µg/mL) dalam waktu 24 jam. Sintesis protein bFGF diuji menggunakan *enzym linked immunoabsorbent assay* (ELISA). **Hasil:** Ekstrak kloroform *C. nutans* dan *A. vera* dapat meningkatkan sintesis protein bFGF lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif pada uji ELISA. *C. nutans* konsentrasi 10 µg/mL menunjukkan sintesis protein bFGF tertinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. **Kesimpulan:** Ekstrak kloroform *C. nutans* dan *A. vera* dapat meningkatkan sintesis protein bFGF pada fibroblas.

PENDAHULUAN

Tumbuhan dandang gendis (*Clinacanthus nutans* (*Burm f.*) *Lindau*) berasal dari daerah tropis di Asia Tenggara, khususnya Thailand, dan juga tumbuh di Cina bagian selatan dan beberapa daerah beriklim sedang. *C. nutans* merupakan semak yang dapat tumbuh setinggi 1 hingga 3 m dan bercabang.¹⁻² *C. nutans* berasal dari famili *Acanthaceae*.³⁻⁷ Memiliki daun dengan ujung yang runcing, pangkal daun membulat dan berwarna hijau.¹⁻² Penelitian sebelumnya, mengungkapkan bahwa ekstrak kloroform dari daun *C. nutans* dan senyawa yang diisolasi, purpurin-18 phytol ester, memiliki aktivitas antiinflamasi, penyembuhan luka *in-vitro*, dan kemampuan menginduksi migrasi fibroblas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa purpurin-18 phytol ester dapat menjadi agen terapi potensial untuk mengobati gingivitis dan ulserasi oral.⁸

Aloe vera (*A. vera*) adalah tanaman yang berasal dari Madagaskar, Arab Saudi, dan Iran dengan famili *Liliaceae*. *Aloe vera* memiliki daun yang tebal, berdaging dan panjang.⁹ Pada penelitian *in vitro*, menunjukkan *A. vera* dapat menghambat thromboxane (penghambat penyembuhan luka), meningkatkan proses penyembuhan luka, dan mengurangi inflamasi.¹⁰ *Aloe vera* juga sudah diteliti pada fibroblas secara *in vitro*, yang menunjukkan peningkatan ekspresi TGF-β1 dan bFGF pada 12 jam dan menurun pada 24 jam.¹¹

Penyembuhan luka adalah proses yang kompleks, terdiri dari beberapa fase penyembuhan. Proses normal perbaikan luka terdiri dari empat fase yang tumpang tindih dengan serangkaian proses biokimia dan seluler;

hemostasis, peradangan, formasi jaringan (fase proliferasif), dan terakhir remodeling jaringan.¹²⁻¹⁴ Faktor pertumbuhan yang berhubungan dengan proses penyembuhan luka adalah *basic fibroblast growth factor* (bFGF).¹² bFGF terlibat dalam proses penyembuhan luka dan mampu mengatur replikasi dan migrasi sel epitel, endotel, dan fibroblas, serta memicu produksi kolagen, merangsang proses epitelisasi, dan neovaskularisasi.¹⁵

Sampai saat ini belum ada penelitian ilmiah yang membandingkan pengaruh ekstrak daun *C. nutans* dan *A. vera* terhadap sintesis bFGF sebagai indikator penyembuhan luka. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi, membandingkan, dan mengetahui pengaruh ekstrak *C. nutans* dan *A. vera* terhadap sintesis fibroblas bFGF pada fibroblas.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Bahan Tanaman dan Ekstraksi *C. nutans*

Daun *C. nutans* didapatkan dari Indonesia. Spesimen divalidasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bubuk daun *C. nutans* (182 g) diekstraksi dalam ekstraktor Soxhlet pada suhu 55°C menggunakan pelarut heksana dan kloroform (Merck, Kenilworth, USA) secara berurutan. Metode ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dengan beberapa modifikasi.¹² Pelarut kemudian diuapkan dari bubuk daun yang diekstraksi menggunakan *rotary evaporator* (Buchi, Flawil, Switzerland) pada suhu 30°C. Setelah itu, hasil ekstrak heksana dan kloroform didapatkan. Ekstrak kloroform yang akan digunakan dibuat menjadi tiga konsentrasi yaitu 10, 50 dan 100 µg/mL.

Persiapan Bahan Tanaman *Aloe vera*

Daun *A. vera* yang baru dicuci bersih dengan air distilasi, kemudian kulit *A. vera* dikupas dengan kondisi steril. Bagian dalam *A. vera*, berupa gel diambil, dikumpulkan dan dibekukan pada suhu -20°C . *Aloe vera* gel kemudian dilarutkan dalam *Dulbecco's modified eagle medium* (DMEM) dan dibuat dalam tiga konsentrasi yaitu 10, 50, dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Kultur Sel

Kultur primer fibroblas dermal manusia adalah sel yang akan digunakan pada penelitian ini. Fibroblas dikultur dalam DMEM (Gibco, USA), ditambahkan dengan 10% serum *fetal bovine* (Gibco, USA), 1% penisilin & streptomisin, dan 1% amphoterasin B (Invitrogen, USA), kemudian disimpan di inkubator berdasarkan standar kondisi kultur pada suhu 37°C di dalam 5% CO_2 . Media diperbarui secara reguler dan sel disubkultur setiap 3-4 hari atau setelah mencapai konfluensi 80% pada kultur *flask*. Jumlah fibroblas yang dipajankan oleh bahan uji sebanyak 4×10^4 sel.

Perlakuan Pemberian Ekstrak

Fibroblas yang sudah di tumbuhkan dalam 96-well plate, dibagi dalam beberapa kelompok sebagai berikut: Kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan; Kelompok *A. vera* dengan konsentrasi 10, 50 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$; dan Kelompok ekstrak kloroform *C. nutans* dengan konsentrasi 10, 50 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Supernatan dikumpulkan pada waktu 24 jam. Sampel dibekukan pada suhu -20°C . Replikasi dilakukan sebanyak dua kali.

Analisis Ekspresi Protein bFGF Menggunakan ELISA

Analisis ekspresi protein bFGF pada fibroblas dermal menggunakan ELISA pada 96-well plate (105 sel/well), sel-sel diberikan ekstrak kloroform *C. nutans* dengan konsentrasi 10, 50, dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan supernatannya dikumpulkan dalam waktu 24 jam. Sampel dibekukan pada suhu -20°C . Ekspresi bFGF dari sel kultur supernatan diukur dengan menggunakan ELISA kit (Raybiotech, Norcross, USA) sesuai dengan instruksi manufaktur. Sebanyak 100 μL standar *reagent* ditambahkan ke setiap sel kultur supernatan ke dalam sumuran yang sesuai. Sumuran ditutup dan diinkubasi pada suhu kamar selama 2,5 jam. Kemudian, larutan tersebut dibuang dan dicuci dengan 200 μL larutan pencuci PBS plus 0.05% Tween-20 (PBS-T) (1x) untuk setiap sumuran. Kemudian, 100 μL antibodi (1:65000) terbiotinilasi 1x ditambahkan ke setiap sumuran. *Plate* diinkubasi pada suhu ruangan selama satu jam. Setelah itu larutan dibuang dan dicuci sebanyak 4 kali dengan 200 μL larutan pencuci PBS-T pada setiap sumuran.

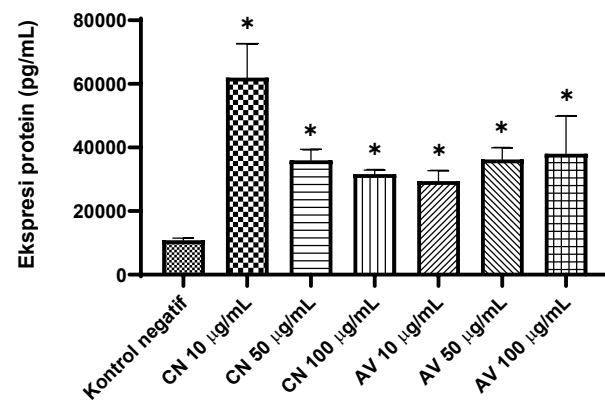
Setelah pencucian, ditambahkan 100 μL sediaan larutan streptavidin ke dalam masing-masing sumuran dan di inkubasi selama 45 menit pada suhu ruang. Larutan dibuang sekali lagi, dan dicuci sebanyak 5 kali dengan 200 μL larutan pencuci pada setiap sumuran. Selanjutnya, ditambahkan 100 μL reagen TMB *One-step substrate* ke masing-masing sumuran dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dalam kondisi gelap. Langkah terakhir, ditambahkan 50 μL *stop solution* dan segera dibaca pada absorbansi 450 nm. Nilai protein sampel ditentukan berdasarkan relasi dengan kurva standar. Hasil kadar bFGF dinyatakan dalam pg/mL .

Analisis Statistik

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini, menggunakan uji normalitas *Shapiro Wilk*. Jika hasil uji menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) maka dilanjutkan uji *Post hoc*. Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., AS).

HASIL PENELITIAN

Hasil sintesis protein bFGF setelah dipaparkan oleh *A. vera* (konsentrasi 10, 50, dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), dan *C. nutans* (konsentrasi 10, 50 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) selama 24 jam menunjukkan peningkatan (Gambar 1).



Gambar 1. Sintesis protein bFGF pada fibroblas terhadap *A. Vera* dan ekstrak kasar *C. nutans*.

*menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap kontrol negatif. *C. nutans* (*Clinacanthus nutans*), *A. vera* (*Aloe vera*)

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, bubuk *C. nutans* diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi soxhlet. Keuntungan utama dari jenis ekstraksi Soxhlet adalah

hanya pelarut hangat yang bersih digunakan untuk mengekstrak padatan di thimble dengan proses yang kontinu, mudah digunakan, dan murah. Proses kontinu tersebut dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Sebaliknya, kerugian dari metode ekstraksi Soxhlet adalah senyawa yang tidak tahan panas mungkin hilang selama proses tersebut, konsumsi waktu yang lama (6-24 jam) dan membutuhkan banyak pelarut.^{16,17}

Heksana merupakan jenis pelarut nonpolar yang dapat melarutkan senyawa bersifat nonpolar. Sedangkan kloroform merupakan pelarut semi polar sehingga kloroform dapat melarutkan senyawa bersifat semi polar. Keuntungan melakukan ekstraksi dengan heksana dan kloroform secara berurutan adalah senyawa non-polar sudah terekstraksi lebih dahulu oleh heksana, sehingga tidak mengganggu senyawa semi polar yang akan diekstraksi oleh kloroform. Pada penelitian sebelumnya, semua ekstrak kasar menunjukkan aktivitas dalam uji *wound healing scratch*, ekstrak kloroform menunjukkan aktivitas terkuat, ini adalah alasan mengapa ekstrak kloroform dipilih untuk isolasi lebih lanjut. Perbedaan pelarut dalam ekstraksi dapat mempengaruhi kandungan senyawa. Hal ini disebabkan karena perbedaan polaritas dari pelarut.^{18,19}

Konstituen aktif *C. nutans* telah dipelajari secara luas. Senyawa klorofil adalah satu-satunya unsur dari *C. nutans* yang telah dilaporkan memiliki aktivitas, yaitu aktivitas antivirus, anti inflamasi dan aktivitas anti biofilm.^{12,20} Sedangkan *A. vera* mengandung 75 konstituen yang berpotensi aktif, termasuk vitamin, enzim, mineral, lignin, saponin, asam salisilat, dan asam amino.^{21,22,23} Kandungan prostaglandin dan enzim penghidrolisis bradikinin, karboksipeptidase dan bradikinas, memiliki sifat pereda rasa sakit dan peradangan.^{24,25} Sejumlah penelitian telah melaporkan bahwa *A. vera* memiliki banyak fungsi, seperti kandungan polisakarida, memiliki sifat imunomodulasi, antimikroba, antivirus, anti-kanker, dan anti-inflamasi.^{26,27} Kandungan Manosa-6-fosfat dan polisakarida, mendukung proses epitelisasi dan reorganisasi jaringan, proliferasi fibroblas, mengaktifkan deposisi kolagen, dan mempercepat penyembuhan luka.^{24,25} Acemannan, -(1,4)-asetat polimannosa adalah polisakarida utama gel *A. vera* yang merupakan aktivator sel darah putih yang berperan penting dalam aktivasi proses penyembuhan luka.^{25,28}

Proliferasi, diferensiasi, dan migrasi fibroblas adalah peran kunci penyembuhan luka. Namun, migrasi fibroblas adalah salah satu peristiwa penting respons biologis dalam penyembuhan luka.²⁹ Fibroblas berproliferasi dan migrasi ke area luka, mensintesis matriks ekstraseluler, dan mengekspresi spindle aktin tebal menjadi myofibroblas.³⁰ Sitokin penting yang

diproduksi oleh fibroblas adalah bFGF. bFGF bertanggung jawab atas pembelahan sel, diferensiasi sel, ekspresi protein dan produksi enzim dan memiliki kemampuan untuk penyembuhan luka melalui stimulasi faktor angiogenesis dan proliferasi seluler yang mempengaruhi produksi dan degradasi matriks ekstraseluler melalui peran kemotaktik pada sel inflamasi (netrofil dan makrofag) dan fibroblas.²²

Penelitian sebelumnya yang membandingkan ekspresi TGF- β 1 dan bFGF pada fibroblas embrio tikus, diberi perlakuan dengan beberapa konsentrasi gel *A. vera*. Konsentrasi yang digunakan adalah (50, 100 dan 150 μ g/ml). Hasil penelitian tersebut ditemukan bahwa ekspresi TGF- β 1 dan bFGF pada waktu 12 jam pada gel *A. vera* meningkat, tetapi setelah 24 jam, ekspresi protein TGF- β 1 dan bFGF menurun.¹⁵ Dari hasil penelitian tersebut, terdapat perbedaan dengan hasil penelitian ini, dimana ekspresi bFGF pada 24 jam terjadi peningkatan. Kemungkinan adanya perbedaan, dikarenakan penelitian sebelumnya menggunakan fibroblas embrio mencit, sedangkan penelitian ini menggunakan fibroblas dermal.

Pada hasil rata-rata sintesis bFGF, *A. vera* (konsentrasi 10, 50, dan 100 μ g/mL), dan ekstrak kasar *C. nutans* (konsentrasi 10, 50 dan 100 μ g/mL) mengalami perbedaan yang signifikan terhadap kontrol. Pada hasil rata-rata *C. nutans* konsentrasi 10 μ g/mL terhadap semua perlakuan juga menunjukkan perbedaan yang signifikan. Dari hasil analisa *post hoc*, *C. nutans* pada konsentrasi 10 mg/mL merupakan yang tertinggi dalam menstimulasi sintesis bFGF dibandingkan dengan konsentrasi 50 dan 10 μ g/mL. Sedangkan *A. vera* konsentrasi 10 μ g/mL menstimulasi sintesis bFGF yang terkecil dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Namun demikian, dapat disimpulkan bahwa *C. nutans* dan *A. vera* memiliki kemampuan yang sama dalam meningkatkan sintesis protein bFGF pada fibroblas.

Limitasi dari penelitian ini adalah peneliti belum mengetahui senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak kloroform *C. nutans*. Untuk penelitian selanjutnya, perlu dilakukan ekstraksi setiap senyawa untuk mengetahui senyawa aktif dari ekstrak daun *C. nutans* yang dapat meningkatkan ekspresi bFGF.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak kloroform *C. nutans* dan *A. vera* dapat meningkatkan sintesis protein bFGF pada fibroblas. Ekstrak kloroform *C. nutans* konsentrasi 10 μ g/mL adalah yang tertinggi dalam menstimulasi sintesis protein bFGF pada fibroblas. Sehingga, menunjukkan bahwa *C. nutans* dan *A. vera* dapat meningkatkan sintesis bFGF, yang dapat

menstimulasi proliferasi fibroblas dan angiogenesis. *Clinacanthus nutans* dan *A. vera* dapat menjadi tanaman obat yang potensial untuk mempercepat penyembuhan luka. Namun, masih diperlukan studi lebih lanjut untuk mengkonfirmasi spekulasi ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Deng Y, Gao C, Xia N, Peng H. Wuacanthus (Acanthaceae), a new Chinese endemic genus segregated from *Justicia* (Acanthaceae). *Plant Divers*. 2016 Dec 19;38(6):312-321.
- Alam A, Ferdosh S, Ghafoor K, Hakim A, Juraimi AS, Khatib A, Sarker ZI. *Clinacanthus nutans*: A review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry. *Asian Pac J Trop Med*. 2016 Apr;9(4):402-409.
- Wu ZY, Raven PH, Hong DY. *Flora of China (Cucurbitaceae through Valerianaceae, with Annonaceae and Berberidaceae)*. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. 2011;19.
- Fong SY, Piva T, Urban S, Huynh T. Genetic homogeneity of vegetatively propagated *Clinacanthus nutans* (Acanthaceae). *J Med Plants Res*. 2014; 8(25): 903-914
- Roosita K., Kusharto CM, Sekiyama M., Fachrurrozi Y, Ohtsuka R. Medicinal plants used by the villagers of a Sundanese community in West Java, Indonesia. *J Ethnopharmacol*. 2008;115: 72–81.
- P'ng XW, Akowuah GA, Chin JH. Evaluation of the sub-acute oral toxic effect of methanol extract of *Clinacanthus nutans* leaves in rats. *J Acute Dis*. 2013; 2:29–32.
- Arullappan S, Rajamanickam P, Thevar N, Kodimani C. In vitro screening of cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activities of *Clinacanthus nutans* (Acanthaceae) leaf extracts. *Trop J Pharm Res*. 2014;13:1455–1461.
- Roeslan MO, Ayudhya TDN, Yingyongnarongkul BE, Koontongkaew S. Anti-biofilm, nitric oxide inhibition and wound healing potential of purpurin-18 phytol ester isolated from *Clinacanthus nutans* leaves. *Biomed Pharmacother*. 2019 May;113:108724
- Malek Hosseini A, Ghaffar zadegan R, Alizadeh SA, Ghaffar zadegan R, Haji Agei R, Ahmadr M. Effect of aloe vera gel, compared to 1% silver sulfadiazine cream on second-degree burn wound healing. *Complementary Medicine Journal of faculty of Nursing and Midwifery*. 2013;3:418-28
- Shelton RM. Aloe vera. Its chemical and therapeutic properties. *Int J Dermatol*. 1991;30:679-83.
- Hormozi M, Assaei R, Boroujeni MB. The effect of aloe vera on the expression of wound healing factors (TGFβ1 and bFGF) in mouse embryonic fibroblast cell: In vitro study. *Biomed Pharmacother*. 2017 Apr;88:610-616.
- Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing. *World J Surg*. 2004 Mar;28(3):321-6.
- Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010 Mar;89(3):219-29.
- Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*. 2003 Jul;83(3):835-70.
- Nugent MA, Iozzo RV. Fibroblast growth factor-2. *Int J Biochem Cell Biol*. 2000 Feb;32(2):115-20.
- Nafiu MO, Hamid AA, Muritala HF, Adeyemi SB. Preparation, Standardization, and Quality Control of Medicinal Plants in Africa. In: *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*. Elsevier; 2017:171–204.
- Picó Y. Recent Advances in Sample Preparation for Pesticide Analysis. In: *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*. Elsevier; 2012: 569–90.
- Santoso J, Anwariyah S, Rumiantin RO, Putri AP, Ukhty N, Stark YY. Phenol content, antioxidant activity and fibers profile of four tropical seagrasses from Indonesia. *Journal of Coastal Development*. 2012;15(2): 189-196.
- Sharma A, Koneri R and Jha DK: A review of pharmacological activity of marine algae in Indian coast. *Int J Pharm Sci & Res* 2019; 10(8): 3540-49.
- Sakdarat S, Shuyprom A, Pientong C, Ekalaksananan T, Thongchai S. Bioactive constituents from the leaves of *Clinacanthus nutans* Lindau. *Bioorg Med Chem*, 2009;17(5): 1857-1860.
- Atherton P. Aloe vera: magic or medicine? *Nurs Stand*. 1998;12:49-52.
- Atherton P. Aloe vera: magic or medicine? *Nurs Stand*. 1998;12:49-52.
- Itrat M, Zarnigar. Aloe vera: A Review of its Clinical Effectiveness. *Int. Res. J. Phar*. 201;4(8): 75–79.
- Maan AA, Nazir A, Khan MKI, Ahmad T, Zia R, Murid M, Abrar M. The therapeutic properties and applications of Aloe vera: A review. *J. Herb. Med*. 2018;12: 1–10.
- Stenkamp V, Stewart M. Medicinal applications and toxicological activities of aloe products. *Pharma Biol*. 2007;45:411–420.
- Boudreau M, Beland F. An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe. *Barbadosensis* (Miller), Aloe Vera. *J Environ Sci Health*. 2006;24:103–154
- Reynolds T, Dweck AC. Aloe vera leaf gel: a review update. *J Ethnopharmacol*. 1999 Dec 15;68(1-3):3-37.

27. Strickland FM. Immune regulation by polysaccharides: implications for skin cancer. *J Photochem Photobiol B*. 2001 Oct;63(1-3):132-40.
28. Chantarawatit P, Sangvanich P, Banlunara W, Soontornvipart K, Thunyakitpaisal P. Acemannan sponges stimulate alveolar bone, cementum and periodontal ligament regeneration in a canine class II furcation defect model. *J Periodontal Res*. 2014 Apr;49(2):164-78.
29. Cáceres M, Oyarzun A, Smith PC. Defective Wound-healing in Aging Gingival Tissue. *J Dent Res*. 2014;93(7):691-7.
30. Matthias S, Sabine W. Transcriptional control of wound repair. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007;23:69-92.