

**EXECUTIVE SUMMARY**  
**PENELITIAN DOSEN PEMULA**



**EKSPRESI SIKLOOKSIGENASE-2 GINGIVA PADA TIKUS YANG  
DIINDUKSI PERIODONTITIS SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK  
ETANOLIK KULIT MANGGIS**

**Peneliti**  
**drg. RendraChriestedy P. 0031058303**

**Dibiayai oleh**  
**DIPA Universitas Jember Tahun Anggaran 2013**  
**No. DIPA-023.04.2.414995/2013**

**UNIVERSITAS JEMBER**  
**DESEMBER, 2013**

## **EXECUTIVE SUMMARY**

Judul :EkspresiSiklooksigenase-2 Gingiva PadaTikus yang  
Diinduksi Periodontitis  
SetelahPemberianEkstrakEtanolikKulitManggis

Peneliti/Pelaksana  
Nama Lengkap : drg. RendraChriestedyPrasetya  
NIDN : 0031058303  
Sumber Dana : DIPA UniversitasJember  
Diseminasi : belumada  
Alamat surel (e-mail) : rendrachriestedy@gmail.com  
Perguruan Tinggi : UniversitasJember

# **EKSPRESI SIKLOOKSIGENASE-2 (COX-2) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI PERIODONTITIS SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOLIK KULIT MANGGIS**

**Rendra Chriestedy Prasetya**

Bagian Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

## **Abstract**

*Cyclooxygenase is an enzyme that synthesizes prostaglandins (PGs) from arachidonic acid. Cyclooxygenase has been characterized and named COX-1 and COX-2. COX-1 is responsible for constitutive PGs production under physiological conditions and maintains normal function. On the other hand, COX-2 expression is inducible by cytokines and endotoxin. Periodontitis is a chronic inflammatory disease caused by anaerobic bacteria, especially gram-negative bacteria. When periodontitis occurs, it is followed by increased COX-2 expression. Mangosteen rind contains gamma mangostin, which inhibits the synthesis of PGE2 through inhibition of COX-2 expression. This research aimed to study COX-2 expression in experimental-induced periodontitis in rats after mangosteen rind ethanol extract administration. Forty-eight male Wistar rats were induced with periodontitis by putting silk ligature subgingivally around the neck of the anterior lower teeth for 7 days. After the ligation was taken out, the rats were divided into 4 groups and treated orally with mangosteen rind extract 60 mg/kg BB, 30 mg/kg BB, ibuprofen, and saline. The rats were sacrificed on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup>, and 7<sup>th</sup> day after treatment. Their anterior lower jaws were processed for paraffin-embedded tissue, cut serially, and stained with immunohistochemistry. COX-2 expression was observed and counted under the microscope (400x). The data were analyzed using Kruskal-Wallis test. Kruskal-Wallis result showed a significant difference in COX-2 expression among groups, indicating that mangosteen rind ethanol extract affected COX-2 expression. In conclusion, mangosteen rind ethanol extract reduced COX-2 expression in periodontitis rats.*

**Keywords:** *periodontitis, mangosteen rind ethanol extract, Cyclooxygenase-2*

## **Pendahuluan**

Siklooksigenase merupakan enzim yang pertama kali disintesis dalam metabolisme asam arakhidonat.<sup>1</sup> Siklooksigenase disintesis dari membran fosfolipid yang didegradasi oleh enzim fosfolipase A2 (PLA2). Asam arakhidonat diubah menjadi prostaglandin H<sub>2</sub> (PG-H<sub>2</sub>) oleh enzim siklooksigenase dan sintesis PGE<sub>2</sub> oleh enzim prostaglandin sintase (PGES).<sup>2</sup> Siklooksigenase terdiri dari 2 isoform yaitu COX-1 dan COX-2.

Siklooksigenase-1 bertanggung jawab pada kondisi fisiologis pada berbagai jaringan seperti ginjal dan mukosa lambung mengatur aliran cairan ginjal dan homeostasis.<sup>3</sup> Siklooksigenase 2 merupakan enzim yang diekspresikan sebagai respon terhadap agen proinflamasi seperti sitokin dan endotoksin. Enzim ini berperan dalam

pembentukan prostaglandin yang diikuti oleh proses patofisiologis seperti edema, hiperalgesia, dan demam.<sup>4</sup>

Periodontitis merupakan inflamasi kronis yang mengenai jaringan periodontal gigi. Penyebab utama terjadinya periodontitis adalah invasi bakteri dan produknya terutama bakteri gram negatif anaerob.<sup>5</sup> Gambaran klinis periodontitis adalah kemerahan, kontur membulat, tekstur halus mengkilat, kedalaman probing yang dalam diikuti dengan *loss of attachment*, kerusakan tulang alveolar. Apabila kerusakan tulang alveolar semakin parah akan menyebabkan kehilangan gigi (*tooth loss*).<sup>6</sup> Salah satu gambaran histologis periodontitis adalah meningkatnya infiltrasi sel inflamasi terutama makrofag dan limfosit.<sup>7</sup>

Bakteri dan produknya akan menginduksi sel untuk mensintesis Interleukin-1 dan *Tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ). Interleukin-1 dan TNF- $\alpha$  akan mempengaruhi kepada membran sel untuk mensintesis siklooksigenase-2 melalui metabolisme asam arakhidonat.<sup>8</sup>

Saat ini perawatan periodontitis adalah perawatan mekanis yang ditunjang dengan penggunaan antibiotik dan anti inflamasi. Perawatan mekanis meliputi skaling dan root planing serta perawatan bedah yang bertujuan untuk mengurangi akumulasi plak dan kalkulus. Pemberian antibiotik dan anti inflamasi sebagai *adjuvant therapy* dalam perawatan periodontitis bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, mengurangi bertambah parahnya periodontitis serta menurunkan infiltrasi sel inflamasi.<sup>5</sup>

Manggis merupakan tumbuhan yang berasal dari Asia Tenggara meliputi Indonesia, Malaysia, Thailand. Manggis merupakan buah yang fungsional dimana buahnya dipakai untuk buah kaleng, sirup atau sari buah. Secara tradisional buah manggis digunakan sebagai obat sariawan, wasir dan luka. Kulit buah dimanfaatkan sebagai pewarna termasuk untuk tekstil dan air rebusannya dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Batang pohon dipakai sebagai bahan bangunan, kayu bakar atau kerajinan.<sup>9</sup> Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana Linn*) telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat antiinflamasi. Khasiat anti inflamasi kulit buah manggis diduga berasal dari senyawa golongan xanton yang termasuk didalamnya  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin.<sup>10</sup>

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa alfa mangostin secara signifikan menghambat produksi nitrit oksida (NO), Prostaglandin E2 (PGE2), *tumor necrosis factor*(TNF)- $\alpha$  dan *inducible NOS* (iNOS) pada sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida.<sup>11</sup> Selain itu hasil penelitian<sup>12</sup> menunjukkan bahwa gamma mangostin mampu menghambat pelepasan PGE2 dengan menghambat ekspresi COX-2 dan mRNA pada sel glioma tikus C6 yang diinduksi Ca<sup>2+</sup> ionophore A23187 (*in vitro*).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap ekspresi siklooksigenase-2 pada gingiva tikus yang diinduksi periodontitis.

### **Bahan dan Metode**

Penelitian ini menggunakan 48 ekor tikus wistar jantan usia 2 bulan dengan berat badan 175-200 gram. tikus dianestesi dengan diinjeksi ketamine HCl secara intramuskular pada otot paha belakang dengan dosis 0,2 ml/200 gram berat BB. Kulit manggis diidentifikasi di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Pembuatan ekstrak kulit manggis dilakukan di LPPT unit I UGM Yogyakarta dengan metode ekstraksi yang digunakan adalah metode perkolasi dengan pelarut etanol.

Induksi periodontitis dilakukan dengan mengikat benang dari sutra (*silk ligature*) ukuran 3,0 pada daerah subgingiva di sekeliling gigi *incisivus* anterior rahang bawah. Pada hari ke-7 ligasi dilepas kemudian tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis dosis 60 mg/kg BB, kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis dosis 30 mg/kg BB, kelompok kontrol positif yang diberi ibuprofen 9 mg/kg BB dan kelompok kontrol negatif yang diberi saline 0,5 ml. Pemberian perlakuan secara peroral sehari 3 kali dengan menggunakan *oral gavage* pada masing-masing kelompok tikus.

Pada hari ke-1, 3, 5, dan 7 setelah perlakuan, hewan didekapitasi dekapitasi. Rahang bawah pada bagian gigi anterior yang telah diberi perlakuan diambil dan difiksasi dengan *buffered* formalin 10% selama 24 jam. Spesimen kemudian didekalsifikasi menggunakan EDTA 10% pH 7,4 selama 6 minggu pada suhu 4°C. Setelah lunak, spesimen ditanam dalam parafin, dan dipotong serial dengan

ketebalan 3  $\mu\text{m}$  untuk dilakukan pengecatan imunohistokimia menggunakan antibodi COX-2 (Lab vision RB 9072-PO).

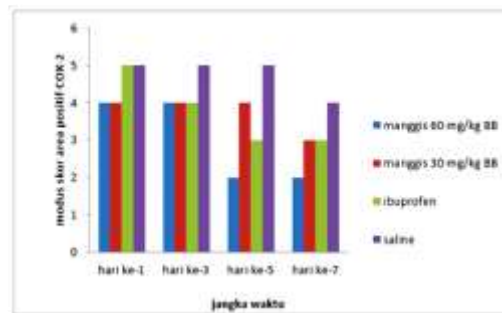
Ekspresi COX-2 diamati dengan menggunakan skor persentase sel positif dan intensitas warna COX-2 yang diamati pada tiga lapangan pandang berbeda pada daerah sulkus gingiva dan jaringan ikat di bawah epitel *junctional* dan epitel *sulcular*. Pengolahan data statistik menggunakan *Kruskall Wallis test* dilanjutkan dengan uji *Mann whitney test* dengan tingkat signifikansi  $p < 0,05$ .

## Hasil

Pada penelitian ini diperoleh data hasil untuk masing-masing kelompok perlakuan, yang terbagi dalam 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB, kelompok ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB, kelompok kontrol (+), kelompok kontrol (-).

### 1. Skor persentase area positif COX-2

Modus skor persentase area positif COX-2 dapat digambarkan dalam grafik pada gambar 1.



**Gambar 1. Modus skor persentase area positif COX-2 berdasarkan kelompok perlakuan dan waktu dekapitasi**

Dari gambar 1 tampak bahwa terjadi penurunan modus skor persentase area positif COX-2 pada kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB, 30 mg/kg BB, ibuprofen serta saline dengan bertambahnya waktu. Skor persentase area positif COX-2 terendah tampak pada kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB. Data hasil pengamatan dianalisis dengan uji *Kruskall Wallis* untuk mengetahui perbedaan skor persentase area positif COX-2 antar kelompok tikus perlakuan.

**Tabel 1. Hasil uji *Kruskal-Wallis* antar kelompok perlakuan terhadap perubahan skor persentase area positif COX-2 berdasarkan kelompok perlakuan**

Kelompok	Mean Rank	Sig.
Manggis 60mg/kg BB	12,33	0,00*
Manggis30 mg/kg BB	24,33	
Ibuprofen	25,50	
Saline	35,83	

Keterangan: \* = berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )

Hasil uji *Kruskal Wallis* dengan nilai sig. 0,00 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis berpengaruh terhadap penurunan skor persentase area COX-2 antara kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB, 30 mg/kg BB, ibuprofen dan saline. Selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan skor persentase area positif COX-2 antara masing-masing kelompok

**Tabel 2. Hasil uji *Mann-Whitney* antar kelompok perlakuan terhadap perubahan skor persentase area positif COX-2 berdasarkan kelompok perlakuan**

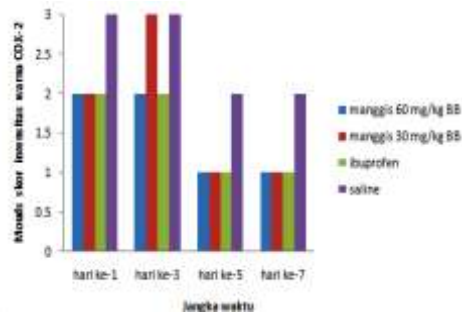
Kelompok	Mean Rank	Sig.
Manggis60 mg/kg BB	7,29	0,00*
Saline	17,71	
Manggis 30 mg/kg BB	9,38	0,02*
Saline	15,62	
Ibuprofen	9,50	0,02*
Saline	15,50	
Manggis 60 mg/kg BB	8,88	0,01*
Ibuprofen	16,12	
Manggis 30 mg/kg BB	12,12	0,78
Ibuprofen	12,88	
Manggis 60 mg/kg BB	9,17	0,02*
Manggis 30 mg/kg BB	15,83	

Keterangan: \* = berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )

Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan skor persentase area positif COX-2 yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara semua kelompok perlakuan.

## 2. Skor Intensitas warna COX-2

Modus skor intensitas warna COX-2 dapat digambarkan dalam grafik pada gambar 2.



**Gambar 2. Modus skor intensitas warna COX-2 berdasarkan kelompok perlakuan dan waktu dekapitasi**

Gambar 2 menunjukkan modus skor intensitas warna COX-2 tampak mengalami penurunan pada seluruh kelompok perlakuan pada hari ke-5 dan hari ke-7. Data hasil pengamatan dianalisis dengan uji *Kruskall Wallis* untuk mengetahui perbedaan skor intensitas warna COX-2 antar kelompok tikus perlakuan.

**Tabel 3. Hasil uji *Kruskal-Wallis* antar kelompok perlakuan terhadap perubahan skor intensitas warna COX-2 berdasarkan kelompok perlakuan**

Kelompok	Mean Rank	Sig.
Manggis 60 mg/kgBB	22,17	0,04*
Manggis 30 mg/kg BB	19,25	
Ibuprofen	23,92	
Saline	32,67	

Keterangan: \* = berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )

Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan adanya perbedaan intensitas warna COX-2 yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antar kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB, 30 mg/kg BB, ibuprofen dan saline. Hal ini berarti pemberian ekstrak kulit manggis berpengaruh terhadap penurunan intensitas warna COX-2. Selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan intensitas warna COX-2 antara masing-masing kelompok.



**Tabel 4. Hasil uji *Mann-Whitney* antar kelompok perlakuan terhadap perubahan skor intensitas warna COX-2 berdasarkan kelompok perlakuan**

Kelompok	Mean Rank	Sig.
Manggis 60 mg/kg BB	13,21	0,048*
Saline	15,08	
Manggis 30 mg/kg BB	9,17	0,01*
Saline	15,83	
Ibuprofen	10,25	0,09
Saline	14,75	
Manggis 60 mg/kg BB	12,04	0,07
Ibuprofen	12,96	
Manggis 30 mg/kg BB	11,29	0,34
Ibuprofen	13,71	
Manggis 60 mg/kg BB	13,21	0,58
Manggis 30 mg/kg BB	11,79	

Keterangan: \* = berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )

Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan intensitas warna COX-2 yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB dan manggis 60 mg/kg BB dibandingkan dengan kelompok saline. Tidak terdapat perbedaan intensitas warna COX-2 yang bermakna ( $p > 0,05$ ) antara kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB dan 30 mg/kg BB dibandingkan dengan ibuprofen, serta kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis 60 mg/kg BB dibandingkan yang diberi ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB.

### **Pembahasan**

Pada penelitian ini ekspresi COX-2 diukur melalui skor persentase area positif dan intensitas warna. Induksi periodontitis dilakukan dengan cara mengikatkan benang dari sutra (*silk ligature*) ukuran 3,0 pada daerah subgingiva di sekeliling gigi *incisivus* anterior rahang bawah.<sup>13</sup> Ligasi bertujuan agar terjadi akumulasi dental plak yang akan menginduksi terjadinya periodontitis. Setelah ligasi akan terbentuk dental plak yang tersusun antara lain oleh bakteri *Veillonella Parvula*, *Parmivonas Micra*, *Streptococcus Mitis*.<sup>14</sup>

Hasil pewarnaan dengan teknik imunohistokimia menggunakan antibodi anti COX-2 tampak warna coklat pada sitoplasma sel fibroblas, makrofag, neutrofil serta

lapisan basal epitel dengan intensitas yang bervariasi mengindikasikan ekspresi positif COX-2. Semakin kuat intensitas warna semakin kuat ekspresi COX-2. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian<sup>15</sup> bahwa protein COX-2 terekspresi pada sel inflamasi, sel endotel, fibroblast gingiva dan sel epitel pada gingiva yang terinflamasi.

Ekspresi COX-2 pada kelompok ekstrak kulit manggis 60 dan 30 mg/kg BB menunjukkan penurunan pada hari ke-3,5 dan 7 dibandingkan hari ke-1 baik pada skor persentase area positif dan intensitas warna. Peningkatan intensitas warna hari ke-3 hanya pada kelompok ekstrak kulit manggis 30 mg/kg BB dibandingkan hari ke-1.

Lipopolisakarida (LPS) akan menginduksi terjadinya inflamasi pada jaringan periodontal gigi. Lipopolisakarida akan berikatan dengan makrofag melalui *toll like receptor 4*. Ikatan tersebut akan memicu NF- $\kappa$ B di dalam makrofag yang selanjutnya menginduksi sekresi sitokin proinflamasi antara lain IL-1 dan TNF- $\alpha$ .<sup>8</sup>

Interleukin-1 dan TNF- $\alpha$  yang dihasilkan oleh makrofag juga akan menyebabkan lepasnya fosfolipid dari membran sel epitel gingiva, fibroblas, sel mast, neutrofil, makrofag, limfosit sehingga terjadi metabolisme asam arakhidonat oleh kerja enzim fosfolipase A2. Siklooksigenase (COX) merupakan enzim yang disintesis dari metabolisme asam arakhidonat. Siklooksigenase berperan pertama kali mengkatalisis 2 tahap biosintesis prostaglandin dan terdapat dalam 2 bentuk yaitu COX-1 dan COX-2. Siklooksigenase 1 berperan dalam proses homeostasis sedangkan COX-2 jumlahnya meningkat saat terjadi inflamasi dan berperan dalam sintesis prostaglandin terutama PGE2.<sup>16</sup> Peningkatan ekspresi COX-2 akan meningkatkan sintesis PGE2. Peningkatan sintesis PGE2 akan menyebabkan peningkatan vasodilatasi dan permeabilitas endotelium yang berakibat meningkatkan infiltrasi sel inflamasi.<sup>5</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis mampu menurunkan ekspresi COX-2. Penurunan ekspresi COX-2 pada kelompok yang diberi ekstrak kulit manggis diduga disebabkan oleh kandungan kulit manggis sebagai bahan antiinflamasi. Kandungan kulit buah manggis adalah golongan xanton yang termasuk di dalamnya alfa mangostin dan gamma mangostin.<sup>10</sup> Gamma mangostin dari kulit buah manggis mampu menghambat ekspresi MAPK, NF- $\kappa$ B dan

AP-1 dalam makrofag.<sup>17</sup> Penurunan sekresi IL-1 dan TNF- $\alpha$  akan menurunkan ekspresi COX-2 karena hambatan sinyal dari IL-1 dan TNF- $\alpha$  untuk lepasnya fosfolipid dari membran sel. Sedangkan ekspresi COX-2 pada kelompok kontrol negatif lebih tinggi. Jumlah mRNA dan protein COX-2 gingiva pada subyek dengan periodontitis kronis lebih tinggi dibandingkan yang sehat.<sup>18</sup> Hal ini diperkuathasil penelitian<sup>19</sup> bahwa ekspresi COX-2 pada pasien gingivitis ataupun periodontitis lebih tinggi dibandingkan dengan gingiva yang sehat.

### **Kesimpulan**

Pada penelitian ini ekstrak kulit manggis secara signifikan mampu menurunkan ekspresi COX-2.

### **Daftar Pustaka**

1. Smith WL, Song I. The enzymology of prostaglandin endoperoxide synthases-1 and -2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2002;68/69:115-28.
2. Inada Y, Ikeda K, Tojo K, Sakamoto M, Takada Y, Tajima N. Possible Involvement of Corticotropin Release Factor Receptor of Signaling on Vascular Inflammation. *Peptides* 2006;5: 142-47.
3. O'Neil GP, Ford-Hutchinson AW. Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissue. *FEBS Lett* 1993;330:156-60.
4. Fracon NR, Teofilo MJ, Satin BR, Lamano T. Prostaglandin and Bone: Potential Risk and Benefit Related to the Use of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Clinical Dentistry. *J. Oral Sci* 2008; 50: 247-52.
5. Carranza F, Henry H, Newman, Michael, G. *Clinical Periodontology*. 10<sup>th</sup> edition. New York: WB Saunders; 2006.
6. Reddy DS. The Role of Neurosteroid in the Pathophysiology and Treatment of Catamenial Epilepsy. *Epilepsy Res* 2009; 3:127-29.
7. Rose FL, Mealey LB, Genco JB, Rose WD. *Periodontics Medicine and Surgery*. Missouri: Mosby; 2004.
8. Kumar V, Abbas A, Fausto N. *Pathologic Basis of Disease*. 8<sup>th</sup> ed. New York: Elsevier; 2006.

9. Nugroho AE. Manggis (*Garcinia mangostana* L.) : Dari Kulit Buah yang Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat. Jogjakarta: Farmasi UGM; 2011.
10. ChinYW, Jung, HA, ChaiH, KellerWJ, KinghornAD. Xanthonenes with Quinone Reductase-Inducing Activity from The Fruits of *Garcinia Mangostana* (Mangosteen). *Phytochem* 2008; 69: 754–58.
11. Chen LG, Yang LL, Wang CC. Anti Inflammatory Activity of Mangostins from *Garcinia Mangostana*. *J. Food Chem. Toxicol* 2006; 10: 1016.
12. Nakatani K, Yamakuni T, Kondo N, Arakawa T, Oosawa K, Shimura S, Inoue H, Ohizumi Y. Gamma mangostin Inhibitor kB Kinase Activity and Decreases Lipopolysaccharide-Induced Cyclooxygenase-2 Gen Expression in C6 Rat Glioma Cells. *J. Mol. Pharmacol* 2004; 662-67.
13. TsagareliW. Ultrastructural Aspect of Gingival Soft Tissue Cells Population Under Experimental Gingivitis. Georgia: Tbilisi State Medical University; 2006.
14. Duarte MP, Tezolim RK, Figueiredo CL, Feres M, Bastus PM. Microbial Profile of Ligature-Induced Periodontitis in Rats. *Arch. Oral Biol* 2010; 55: 1142-47.
15. Cavanaugh Jr PF, McDonald JS, Pavelie L, Limardi RJ, Glickman JL, Pavelic ZP. Immunohistochemical localization of prostaglandin H synthase isozyme proteins in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Inflammopharmacology* 1995; 3: 109—19.
16. Porth MC, Matfin G, Pathophysiology Concept of Altered Health Science. 8<sup>th</sup> ed. New York: Mosby; 2009.
17. Bungrumpert A, Kalpravidch R, Chuang C, Overman A, Martinez K, Kennedy A, McIntosh C. Xanthonenes from Mangosteen Inhibit Inflammation in Human Macrophages and in Human Adipocytes Exposed to Macrophage Condition Media. *J. Nutr* 2010; 16: 342-47.
18. Zahng F, Engebretson SP, Morton RS, Cavanaugh PF, Subbaranaiah K, Dannenberg AJ. The overexpression of cyclo-oxygenase-2 in chronic periodontitis. *JADA* 2013; 134: 61-7.
19. Mesa F, Aguilar M, Galindo-Moreno P, Bravo M, Valle OF. COX-2 Expression In gingival Biopsies From Periodontal Patient is Correlated With Connective Tissue Loss. *J. Periodontol* 2012; 11: 561.