

RESPONS PULPA GIGI TIKUS TERHADAP PROPOLIS SEBAGAI BAHAN KAPING PULPA LANGSUNG

Ardo Sabir

Department of Conservative Dentistry Faculty of Dentistry, Hasanuddin University

Abstract

Rat Dental Pulp Response to Propolis as a Direct Pulp Capping Agent

The aim of the present study was to assess the response of rat dental pulp to direct pulp capping with ethanol extracts of propolis (EEP). An occlusal cavity was prepared on the right maxillary first molar of Sprague-Dawley rats. The dental pulp was exposed and then lined with a zinc oxide-based filler as a control (group I), or with EEP (group II). Then, each cavity was filled with glass ionomer cement. The animals were sacrificed at week 1, 2, or 4. Biopsy samples were obtained, and these were stained and viewed by a light microscopic. The histological examination was based on the presence of polymorph nuclear leukocytes and macrophages, and also the dentinal bridge formation. Data were statistically analyzed by using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. The results showed that the inflammatory response of EEP group was relatively milder compared to the control group, but there was no significant difference ($p > 0.05$) between the two groups. There was no dentinal bridge formation seen in both groups. Therefore, the present results suggest that direct pulp capping with EEP in rats may delay dental pulp inflammatory process and fail to stimulate reparative dentin. *Indonesian Journal of Dentistry 2006; Edisi Khusus KPPIKG XIV: 57-61.*

Key words: Propolis, Direct pulp capping, Inflammatory response, Dentinal bridge Formation, Rat.

Pendahuluan

Propolis adalah bahan resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai jenis tumbuhan.^{1,2} Komposisi propolis sangat bervariasi dan erat hubungannya dengan jenis dan umur tumbuhan dimana propolis tersebut berasal.^{3,4} Umumnya komposisi propolis terdiri dari:³ campuran resin dan getah (39%-53%), polifenol (1,2%-17%), polisakarida (2% - 3%), lilin (*wax*) (19% - 35%), dan bahan lain (8%-12%). Senyawa kimia yang terdapat pada propolis adalah:^{2,5} asam amino, asam alifatik dan esternya, asam aromatik dan esternya, alkohol, aldehida, khalkon, dihidrokhalkon, flavanon, flavon, hidrokarbon, keton, glukosa, dan terpenoid. Propolis telah digunakan sebagai obat tradisional sejak dahulu kala, karena memiliki beberapa aktivitas

biologis dan farmakologis, antara lain:⁶ (1) Bersifat antibakteri terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif, (2) Bersifat anti inflamasi, (3) Memiliki aktivitas antijamur, (4) Meningkatkan regenerasi jaringan tulang dan kartilago, dan (5) Bersifat antioksidan karena mampu menangkap radikal bebas.

Penggunaan propolis di bidang kedokteran gigi baru dilaporkan beberapa tahun terakhir. Telah dikemukakan bahwa propolis dapat digunakan pada: (1) Perawatan penyakit gingivitis,⁷⁻⁹ (2) pengobatan ulserasi rongga mulut,⁷ (3) pencegahan karies gigi,¹⁰⁻¹² (4) meningkatkan aktivitas mineralisasi pada permukaan email gigi,¹³ (5) mempercepat perbaikan jaringan dan penyembuhan luka setelah prosedur bedah mulut,¹⁴ dan (6) pada perawatan gangren pulpa,¹⁵ serta periodontitis.¹⁶

Perawatan kaping pulpa langsung adalah suatu tindakan peletakan suatu bahan berupa medikamen maupun non-medikamen pada pulpa yang terbuka karena mekanis dan/atau proses karies untuk memberi kesempatan pada pulpa memperbaiki diri dan mempertahankan vitalitas serta fungsi normalnya.^{17,18} Perawatan ini bermanfaat untuk memelihara vitalitas gigi.¹⁹ Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui respons pulpa gigi tikus terhadap Ekstrak Etanol Propolis (EEP) sebagai bahan kaping alternatif pada perawatan kaping pulpa langsung.

Bahan dan Cara Kerja

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratoris. Propolis diperoleh dari sarang lebah yang terdapat di Kabupaten Bulukumba, Provinsi Sulawesi Selatan, pada awal musim hujan. Ekstrak Etanol Propolis (EEP) diperoleh dengan teknik maserasi yakni propolis dilarutkan dengan larutan etanol 95% (1 : 5) dan diaduk selama 3 jam, kemudian dilakukan perendaman selama 5 hari. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtrat, kemudian filtrat tersebut diuapkan hingga diperoleh EEP dengan konsistensi kental.

Pada penelitian ini digunakan 18 ekor tikus galur *Sprague-Dawley* jantan berumur 8-16 minggu dengan berat badan 200 - 250 g. Semua tikus diberi pakan standar dan air minum *ad libitum*. Tikus dibagi secara random menjadi 2 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor yaitu kelompok I sebagai kelompok kontrol (*zinc oxide-based filler*) dan kelompok II adalah kelompok perlakuan (EEP).

Alat-alat yang akan digunakan dalam keadaan steril. Semua tikus dianestesi secara intramuskular dengan ketamin (Ketalar[®], Warner Lambert, Irlandia) (65 mg/kg berat badan) dan *xylozine*-HCl (Rompun[®], Bayer, Leverkusen, Jerman) (7 mg/kg berat badan) yang dilarutkan dalam *phosphat buffered saline* (PBS) steril. Tindakan kaping pulpa langsung diawali dengan melakukan disinfeksi permukaan oklusal gigi yang akan dibuat kavitas dengan cara mengulasi gigi dengan pelet kapas yang telah dicelupkan ke dalam larutan alkohol 70%. Pada gigi molar pertama kanan rahang atas dibuat kavitas oklusal dengan menggunakan henpis dengan bur intan bundar berdiameter 0,84 mm (Intensiv[®], Swiss) dalam kecepatan rendah tanpa air hingga hampir mencapai ruang pulpa. Kedalaman preparasi diperkirakan sebesar kepala bur. Tindakan perforasi terhadap ruang pulpa dilakukan dengan meng-

gunakan eksplorator dental dengan diameter ujung eksplorator 0,35 mm (Martin[®], Jerman). Setelah terjadi perforasi, kavitas diirigasi dengan larutan salin steril dan dikeringkan dengan pelet kapas. Perdarahan yang timbul dihentikan dengan ujung poin kertas (*paper point*) steril. Sebagai bahan kaping pulpa langsung untuk kelompok I diaplikasikan 0,5 mg bahan *zinc oxide-based filler* (Dentorit[®], Dentoria, Perancis) sedangkan pada kelompok II diaplikasikan 0,5 mg EEP. Pemilihan *zinc oxide-based filler* sebagai bahan kontrol didasarkan pada kenyataan bahwa *zinc oxide* tidak mempengaruhi respons inflamasi yang terjadi pada pulpa gigi.²⁰ Aplikasi bahan pada permukaan pulpa dilakukan menggunakan aplikator (*ball applicator*) dengan diameter ujung aplikator 0,63 mm. Semua gigi kemudian ditumpat dengan bahan tumpatan permanen semen ionomer kaca (SIK) (Fuji IX[®], GC Tokyo, Jepang).

Tiga ekor tikus dari masing-masing kelompok dikorbankan 1, 2, dan 4 minggu setelah perlakuan. Setelah tikus didekapitasi, tulang rahang di daerah interdental gigi molar pertama kanan rahang atas diambil, difiksasi selama 4 hari dalam larutan formalin 10%, dilanjutkan dengan dekalsifikasi selama 30 hari dalam larutan EDTA 10%. Selanjutnya dilakukan proses *embedding* terhadap spesimen ke dalam parafin cair dan diberi label/kode. Setelah proses *embedding* selesai, jaringan diiris secara berseri setebal 6 μ m paralel sumbu panjang gigi dengan menggunakan mikrotom. Tahap akhir, dilakukan pewarnaan Hemaktosilin-Eosin (HE) terhadap jaringan dan diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya (Leitzwetzlar[®], Jerman). Penilaian histologik berdasarkan kriteria yang digunakan Kirk dkk (1989)²¹ yaitu:

- A. Respons inflamasi, yang dievaluasi berdasarkan ada/tidaknya leukosit polimorfonukleus (*polymorphonuclear leukocytes* = PMNL), dan sel makrofag. Penilaiannya dibagi atas 4 kriteria, yaitu: tidak ada inflamasi = tidak terdapat infiltrasi sel inflamasi (skor 0), inflamasi ringan = infiltrasi oleh PMNL dan sel makrofag dalam jumlah sedikit (skor 1), inflamasi moderat = infiltrasi oleh PMNL dan sel makrofag dalam jumlah sedang (skor 2), dan inflamasi berat = infiltrasi oleh PMNL dan sel makrofag dalam jumlah banyak (skor 3).
- B. Pembentukan jembatan dentin yang penilaiannya terbagi atas 3 kriteria, yaitu: tidak terbentuk jembatan dentin (skor 0), pembentukan

RESPONS PULPA GIGI TIKUS TERHADAP PROPOLIS SEBAGAI BAHAN KAPING PULPA LANGSUNG

Ardo Sabir

Department of Conservative Dentistry Faculty of Dentistry, Hasanuddin University

Abstract

Rat Dental Pulp Response to Propolis as a Direct Pulp Capping Agent

The aim of the present study was to assess the response of rat dental pulp to direct pulp capping with ethanol extracts of propolis (EEP). An occlusal cavity was prepared on the right maxillary first molar of Sprague-Dawley rats. The dental pulp was exposed and then lined with a zinc oxide-based filler as a control (group I), or with EEP (group II). Then, each cavity was filled with glass ionomer cement. The animals were sacrificed at week 1, 2, or 4. Biopsy samples were obtained, and these were stained and viewed by a light microscopic. The histological examination was based on the presence of polymorph nuclear leukocytes and macrophages, and also the dentinal bridge formation. Data were statistically analyzed by using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. The results showed that the inflammatory response of EEP group was relatively milder compared to the control group, but there was no significant difference ($p > 0.05$) between the two groups. There was no dentinal bridge formation seen in both groups. Therefore, the present results suggest that direct pulp capping with EEP in rats may delay dental pulp inflammatory process and fail to stimulate reparative dentin. *Indonesian Journal of Dentistry 2006; Edisi Khusus KPPIKG XIV: 57-61.*

Key words: Propolis, Direct pulp capping, Inflammatory response, Dentinal bridge Formation, Rat.

Pendahuluan

Propolis adalah bahan resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai jenis tumbuhan.^{1,2} Komposisi propolis sangat bervariasi dan erat hubungannya dengan jenis dan umur tumbuhan dimana propolis tersebut berasal.^{3,4} Umumnya komposisi propolis terdiri dari:³ campuran resin dan getah (39%-53%), polifenol (1,2%-17%), polisakarida (2% - 3%), lilin (*wax*) (19% - 35%), dan bahan lain (8%-12%). Senyawa kimia yang terdapat pada propolis adalah:^{2,5} asam amino, asam alifatik dan esternya, asam aromatik dan esternya, alkohol, aldehida, khalkon, dihidrokhalkon, flavanon, flavon, hidrokarbon, keton, glukosa, dan terpenoid. Propolis telah digunakan sebagai obat tradisional sejak dahulu kala, karena memiliki beberapa aktivitas

biologis dan farmakologis, antara lain:⁶ (1) Bersifat antibakteri terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif, (2) Bersifat anti inflamasi, (3) Memiliki aktivitas antijamur, (4) Meningkatkan regenerasi jaringan tulang dan kartilago, dan (5) Bersifat antioksidan karena mampu menangkap radikal bebas.

Penggunaan propolis di bidang kedokteran gigi baru dilaporkan beberapa tahun terakhir. Telah dikemukakan bahwa propolis dapat digunakan pada: (1) Perawatan penyakit gingivitis,⁷⁻⁹ (2) pengobatan ulserasi rongga mulut,⁷ (3) pencegahan karies gigi,¹⁰⁻¹² (4) meningkatkan aktivitas mineralisasi pada permukaan email gigi,¹³ (5) mempercepat perbaikan jaringan dan penyembuhan luka setelah prosedur bedah mulut,¹⁴ dan (6) pada perawatan gangren pulpa,¹⁵ serta periodontitis.¹⁶

jembatan dentin tidak lengkap (skor 1), dan pembentukan jembatan dentin lengkap (skor 2).

Data kategorik yang diperoleh akan dianalisis secara statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*.²²

Hasil

Hasil pengamatan histologis respons pulpa pada kelompok kontrol dan kelompok EEP pada 3 periode waktu dapat dilihat pada tabel dan gambar di bawah ini.

Pada Tabel 1 tampak bahwa respons inflamasi (tingkat kepadatan PMNL dan sel makrofag) yang terjadi pada ke-2 kelompok hewan uji cenderung meningkat dengan bertambah lamanya waktu pengamatan. Hasil uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney* memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan ($p > 0,05$) respons inflamasi yang timbul antara ke-3 periode waktu pada setiap kelompok, juga tidak ada perbedaan ($p > 0,05$) respons inflamasi antara ke-2 kelompok pada setiap periode waktu.

Tabel 1. Hasil pengamatan histologis respons inflamasi pada kelompok kontrol dan kelompok EEP pada minggu ke-1, ke-2, dan ke-4.

Periode waktu (mg)	Kelompok	Jumlah spesimen	Respons inflamasi			
			Tidak ada	Ringan	Moderat	Berat
1	Kontrol	3	-	2	1	-
	EEP	3	2	1	-	-
2	Kontrol	3	-	-	2	1
	EEP	3	-	2	1	-
4	Kontrol	3	-	-	1	2
	EEP	3	-	1	2	-

Hasil pengamatan dan gambaran histologis mengenai pembentukan jembatan dentin pada penelitian ini didapatkan bahwa pada kedua kelompok baik kelompok kontrol maupun kelompok EEP tidak memperlihatkan adanya pembentukan jembatan dentin. Gambar di bawah ini memperlihatkan respons pulpa gigi tikus pada minggu ke-1, ke-2, dan ke-4 setelah kaping pulpa langsung dengan EEP.



Gambar 1. Foto mikroskopik respons pulpa gigi tikus setelah tindakan kaping pulpa langsung dengan EEP. Tidak terlihat sel inflamasi pada minggu ke-1 (A); Terjadi inflamasi moderat pada minggu ke-2 (B) dan minggu ke-4 (C). Sel inflamasi (panah). Tidak tampak pembentukan jembatan dentin pada ketiga waktu pengamatan. Pewarnaan HE, pembesaran 100x.

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa respons inflamasi yang terjadi pada pulpa gigi tikus akibat tindakan kaping pulpa langsung dengan menggunakan bahan EEP secara numerik lebih ringan dibanding dengan menggunakan *zinc oxide-based filler* (Tabel 1), walaupun analisis statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, sehingga dapat dikatakan bahwa EEP mampu menghambat terjadinya respons inflamasi yang terjadi pada pulpa gigi tikus. Hasil penelitian ini tidak mengherankan sejak propolis diketahui memiliki sifat anti inflamasi. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan senyawa flavonoid, asam amino, terpen, serta derivat asam sinamat pada propolis.²³ Mekanisme propolis dalam menghambat proses inflamasi belum sepenuhnya diketahui, namun diduga disebabkan karena propolis menghambat sintesis eikosanoid. Penghambatan ini akan menyebabkan penurunan kandungan asam arakidonat pada jaringan membran fosfolipid sel^{24,25} yang lebih lanjut akan mengakibatkan terhambatnya pelepasan sejumlah mediator inflamasi seperti prostaglandin, leukotrien dan tromboksan.^{26,27} Mekanisme lain yang mungkin adalah melalui penekanan aktivitas sel imun, produksi nitrit oksida oleh sel makrofag dan sitokin.⁶

Selain bersifat anti inflamasi, propolis juga bersifat anti bakteri.²⁸ Sifat antibakteri dari propolis ini bukan semata-mata disebabkan karena senyawa tunggal, namun karena efek sinergis dari beberapa senyawa yang terdapat pada propolis yang bersifat antibakteri yakni: flavonoid, asam ferulat, ester asam fenol, asam sinamat, dan berbagai ester asam kafeat.²⁹ Mekanisme propolis dalam menghambat pertumbuhan bakteri belum sepenuhnya diketahui, namun demikian Simuth dkk (1986)³⁰ melaporkan adanya beberapa komponen yang terdapat pada propolis yang mampu mengabsorpsi sinar ultraviolet sehingga menghambat kerja enzim polimerase RNA bakteri untuk melekat pada DNA sehingga replikasi DNA bakteri tidak terjadi. Selain itu, komponen tersebut juga menghambat kerja dari enzim endonuklease restriksi sehingga transkripsi tidak terjadi pada RNA dan hal ini mengakibatkan pembelahan sel bakteri tidak terjadi karena terganggunya sintesis protein. Mekanisme lain dikemukakan oleh Takaisi-Kikuni dan Schilcher (1994)³¹ yang pada penelitiannya mendapatkan bahwa EEP bersifat antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* melalui beberapa mekanisme, yakni dengan mencegah pembelahan sel bakteri dengan cara menghambat replikasi DNA

sehingga menyebabkan terbentuknya *Streptococcus pseudo-multicellular*. Selain itu EEP juga menyebabkan terjadinya disorganisasi dari sitoplasma, membran sitoplasmik, serta dinding sel yang kesemuanya mengakibatkan bakteriolisis parsial dan penghambatan sintesis protein, sehingga dikatakan bahwa mekanisme antibakteri propolis terhadap bakteri sangat kompleks dan tidak dapat dianalogikan dengan cara kerja antibiotika klasik.

Terjadinya respons inflamasi yang persisten pada minggu ke-4 mungkin disebabkan karena beberapa hal, yakni: (1) terjadinya kebocoran bakteri yang tidak mampu dicegah oleh EEP,³² atau (2) sifat anti bakteri dan anti inflamasi dari EEP mulai berkurang yang mungkin disebabkan metabolisme dari EEP itu sendiri.³³

Hingga saat ini keberhasilan perawatan kaping pulpa langsung secara histologis didasarkan pada terbentuknya jembatan dentin, karena dengan terbentuknya jembatan dentin maka pulpa gigi akan terhindar dari jejas tambahan. Selain itu, jembatan dentin mencerminkan fungsi sel odontoblas, sedangkan diketahui bahwa sel odontoblas merupakan indikator keadaan pulpa gigi.³⁴ Penelitian oleh Scheller dkk (1978)³⁵ mengungkapkan bahwa EEP mampu meningkatkan regenerasi pulpa gigi. Hal ini diduga disebabkan karena senyawa flavonoid pada EEP mampu menstimulasi pembentukan serabut kolagen.³⁶ Tidak terbentuknya jembatan dentin pada pulpa gigi tikus pada penelitian ini mungkin disebabkan karena kurangnya kandungan senyawa flavonoid yang terdapat pada EEP yang digunakan sebagai bahan kaping pulpa langsung, mengingat bahwa komposisi propolis sebagian besar terdiri atas campuran resin (39-53%), serta lilin (19-35%).^{3,4}

Dari penelitian ini didapatkan bahwa respons inflamasi yang terjadi pada pulpa gigi tikus kelompok EEP relatif lebih ringan dibanding kelompok kontrol, walaupun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara ke-2 kelompok ($p > 0,05$). Tidak terlihat adanya pembentukan jembatan dentin baik pada kelompok kontrol maupun kelompok EEP.

Kesimpulan dan Saran

Tindakan kaping pulpa langsung dengan menggunakan EEP sebagai bahan kaping mampu menghambat proses inflamasi yang terjadi pada pulpa gigi tikus namun tidak mampu menstimulasi terbentuknya dentin reparatif.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui komponen aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol propolis (EEP) yang digunakan pada penelitian ini.

Daftar Acuan

1. Ghisalberti EL. Propolis: a review. *Bee World* 1979;60:59-84.
2. Greenaway W, Scaysbrook T, Whatley FR. The composition and plant origins of propolis: A report of work at Oxford. *Bee World* 1990; 71: 107-18.
3. Chen Y. *Apiculture in China*. 1st ed. Tokyo: Agricultural Publishing House 1993: 96-7.
4. Hill R. *Propolis: the natural antibiotic*. 6th ed. Wellingborough: Thorsons Publishers Ltd. 1981: 7-8.
5. Maruccci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995; 26: 83-99.
6. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 1998; 36: 347-63.
7. Martinez-Silveira G, Gou-Godoy A, Ona-Torriente R, Palmer-Ortiz MC, Falcon-Cuellar MA. Preliminary study of the effect of propolis in the treatment of chronic gingivitis and oral ulceration. *Rev Cubana Estomatol* 1988; 25(3): 36-44.
8. Murray MC, Worthington HV, Blinkhorn AS. A study to investigate the effect of a propolis-containing mouthrinse on the inhibition of de novo plaque formation. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 796-8.
9. Horax S. Efek antimikroba obat kumur propolis terhadap penderita gingivitis [Disertasi]. Ujung Pandang: Universitas Hasanuddin, 2000:1.
10. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Res* 1991; 25(5): 347-51.
11. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Ikegaki M, Sattler A. Effect of *Apis mellifera* propolis from two brazilian regions on caries development in desalivated rats. *Caries Res* 1999; 33: 393-400.
12. Sabir A. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona sp* terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Maj Ked Gigi* 2005; 38(3): 135-41.
13. Giamalia I, Steinberg D, Grobler S, Gedalia I. The effect of propolis exposure on microhardness of human enamel in vitro. *J Oral Rehab* 1999; 26: 941-3.
14. Magro-Filho O, de Carvalho AC. Topical effect of propolis in the repair of sulcoplasties by the modified kazanjian technique. *J Nihon Univ Sch Dent* 1994; 36 (2): 102-11.
15. Gafar M, Sacalus A, David N, David E. Treatment of simple pulp gangrene with the apitherapy product propolis. *Stomatologie* 1986; 33; 115-7.
16. Kosenko SV, Kosovich TI. The treatment of periodontitis with prolonged-action propolis preparations (clinical x-ray research). *Stomatologia-Mosk* 1990; 69(2): 27-9.
17. Grossman LJ, Oliet S, Del Rio CE. *Endodontic practice* 11th ed. Philadelphia: Lea and Febiger 1995: 243-53.
18. Dummett Jr CO, Kopel HM. Pediatric endodontics. In: JJ Ingle, LK Bakland (eds). *Endodontics* 5th ed. Hamilton: BC Decker Inc 2002: 837-40.
19. Sabir A. Kaping pulpa langsung: suatu perawatan yang bermanfaat untuk memelihara vitalitas gigi. *Maj Ked Gigi (Dent J)* (Edisi khusus TIMNAS III) 2003; 104-9.
20. Hashimo S, Uchiyama K, Maeda M, Ishitsuka K, Furumoto K, Nakamura Y. In vivo and in vitro effects of zinc oxide-eugenol (ZOE) on biosynthesis of cyclo-oxygenase products in rat dental pulp. *J Dent Res* 1988; 67: 1092-6.
21. Kirk EEJ, Lim KC, Khan MOG. A comparison of dentinogenesis on pulp capping with calcium hydroxide in paste and cement form. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1989; 68(2): 210-9.
22. Daniel WW. *Statistika nonparametrik terapan*. Jakarta: PT Gramedia 1989: 25-31.
23. Park EH, Kim SH, Park SS. Anti-inflammatory activity of propolis. *Arch Pharm Res* 1996; 19(3): 337-41.
24. Khayyal MT, el Ghazaly MA, el Khatib AS. Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Drug Exp Clin Res* 1993; 19(5): 197-203.
25. Landolfi R, Mower RL, Steiner M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. *Biochem Pharmacol* 1984; 33(9): 1525-30.
26. Yoshimoto T, Furukawa M, Yamamoto S, Horie T, Watanabe-Kohno S. Flavonoids: potent inhibitors of arachidonate 5-lipoxygenase. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 116(2): 612-8.
27. Tordera M, Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. Influence of anti-inflammatory flavonoids on granulation and arachidonic acid release in rat neutrophils. *Z Naturforsch* 1994; 49: 235-40.
28. Grange JM, Davey RW. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J R Soc Med* 1990; 83(3): 159-60.
29. Bonvehi JS, Coll FV, Jordà RE. The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. *JAOCS* 1994; 71(5): 529-32.
30. Šimúth J, Trnovský J, Jeloková J. Inhibition of bacterial DNA-dependent RNA polymerases and restriction endonuclease by UV-absorbing components from propolis. *Pharmazie* 1986; 41(3): 131-2.
31. Takaisi-Kikuni NB, Schlicher H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Med* 1994; 60(3): 222-7.
32. Murray PE, Hafez AA, Windsor LJ, Smith AJ, Cox CF. Comparison of pulp responses following restoration of exposed and non-exposed cavities. *J Dent* 2002; 30: 213-22.
33. Havsteen B. The biochemistry and medical significance of flavonoids. *Pharmacol Ther* 2002; 96: 67-202.
34. Franz FE, Holz J, Baume LJ. Microradiographic assessment of neodentinal bridging following direct pulp capping in human teeth. *J Endod* 1985; 11(1): 6-10.
35. Scheller S, Hiewicz L, Luciak M, Skrobudirska D, Stojko A, Matuga W. Biological properties and chemical application of propolis. IX. Experimental observation on the influence of ethanol extract of propolis (EEP) on dental pulp regeneration. *Arzneimittelforschung* 1978; 28: 289-91.
36. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol* 1983; 32(7): 1141-8.