

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*) SEBAGAI FITOESTROGEN TERHADAP STEATOSIS HEPAR TIKUS MODEL MENOPAUSE

Elliana Freya Hernowo¹, IGK Nyoman Arijana², I Wayan Sugiritama², IGA Dewi Ratnayanti²

¹ Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

² Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

e-mail: ellianafreya@student.unud.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Wanita menopause akan mengalami penurunan hormon estrogen. Hormon estrogen diketahui memiliki sifat hepatoprotektif yang mampu mencegah terjadinya perlemakan pada hepar. Penurunan kadar estrogen bisa digantikan dengan senyawa fitoestrogen. Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diketahui memiliki banyak kandungan antosianin yang terbukti memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen.

Tujuan: Mengetahui adakah perubahan steatosis hepar tikus model menopause dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah *Hylocereus Polyrhizus*.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian *randomized post-test control group design* dengan menggunakan tiga kelompok sampel yang sudah melalui prosedur ovariektomi. Ketiga kelompok adalah kelompok P0 sebagai kontrol tanpa intervensi, P1 dengan intervensi ekstrak etanol kulit buah naga merah dosis 60mg/200grBB, dan P2 dengan intervensi ekstrak etanol kulit buah naga merah dosis 90mg/200grBB.

Hasil: Didapatkan rerata jumlah sel steatosis per 100 sel hepar tikus model menopause pada kelompok P0, P1, dan P2 adalah $59,1259 \pm 10,0087$; $53,0435 \pm 14,0674$; $41,5001 \pm 10,5814$. Hasil *One Way ANOVA* menemukan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai $p = 0,013$. Hasil uji *Post Hoc LSD* menemukan perbedaan rerata antara kelompok P2 dengan P0 ditemukan bermakna ($p = 0,004$) dan P2 dengan P1 juga bermakna ($p = 0,047$). Sedangkan P0 dan P1 tidak bermakna ($p = 0,247$).

Simpulan: Ekstrak etanol kulit buah *Hylocereus Polyrhizus* memiliki pengaruh terhadap steatosis hepar tikus model menopause. Didapatkan steatosis hepar terendah pada kelompok intervensi 90mg/200grBB.

Kata kunci : *Hylocereus polyrhizus*, steatosis, menopause, fitoestrogen

ABSTRACT

Background: Menopausal women will experience estrogen deficiency. Estrogen is known to have hepatoprotective properties which can prevent the development of fatty liver. Decreased levels of estrogen can be replaced with phytoestrogens. Red dragon fruit peel (*Hylocereus polyrhizus*) is known to contain anthocyanins which are phytoestrogens.

Objective: To determine whether there is change in the amount of liver steatosis in menopausal model rats by giving *Hylocereus Polyrhizus* fruit peel ethanol extract.

Methods: This study is a *randomized post-test control group design* study using three ovariectomized sample groups. The three groups were group P0 as control without intervention, P1 and P2 with intervention of red dragon fruit peel ethanol extract at a dose of 60mg/200grBW and 90mg/200grBW respectively.

Results: The mean number of liver steatosis per 100 cells in menopausal model rats in groups P0, P1, and P2 was 59.1259 ± 10.0087 ; 53.0435 ± 14.0674 ; 41.5001 ± 10.5814 respectively. This difference was found to be significant ($p = 0.013$) using *One Way ANOVA*. Using *Post Hoc LSD* test, it was found that the mean difference between P2 and P0 was significant ($p = 0.004$), P2 and P1 was also significant ($p = 0.047$), while P0 and P1 was not significant ($p = 0.247$).

Conclusion: The ethanol extract of *Hylocereus Polyrhizus* fruit peel has an effect on the amount of liver steatosis in menopause model of rats. The least steatosis was found in the P2 group, which was intervened using a dose of 90mg/200grBW.

Keywords : *Hylocereus polyrhizus*, steatosis, menopause, phytoestrogen

1. PENDAHULUAN

Menopause merupakan proses fisiologis yang akan dialami oleh tiap wanita pada usia kurang lebih 50 tahun.¹ Menopause didefinisikan sebagai 12 bulan tanpa menstruasi, dengan didahului oleh siklus menstruasi yang tidak teratur selama setahun dan berbagai gejala seperti *hot flashes*, insomnia, perubahan suasana hati yang mendadak dan keringat malam.² Setelah mengalami menopause, kadar hormon estrogen, terutama estradiol (E2) mengalami penurunan drastis dalam waktu yang singkat.³ Estradiol diketahui memiliki sifat hepatoprotektif melalui mekanisme yang berkaitan dengan reseptor estrogen alfa yang juga banyak ditemukan di hepar.⁴ Estradiol juga berperan sebagai penurun aktivitas lipogenesis melalui berbagai mekanisme dan agen anti-inflamasi.⁴

Kekurangan kadar estradiol diketahui juga dapat memicu penyakit *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD).⁵ Prevalensi penyakit NAFLD ditemukan lebih besar pada kelompok wanita (22,9%) dibandingkan pria (18,3%), dengan prevalensi paling tinggi berada di kelompok wanita usia menopause.⁶ Komplikasi menopause yang sangat banyak membuat masyarakat beralih ke *hormone replacement therapy* (HRT). Pemberian HRT pada waktu yang lama mampu menimbulkan beberapa komplikasi, dari ringan hingga berat.⁷ Oleh karena itu dicari bahan yang mampu menggantikan peran estrogen dan ditemukanlah fitoestrogen, zat dari tumbuhan dengan struktur yang serupa dengan estradiol.⁸

Zat-zat yang termasuk ke dalam fitoestrogen lazim ditemui di buah dan sayur yang sehari-hari dimakan oleh manusia, salah satunya adalah antosianin yang terkandung pada buah naga merah atau *Hylocereus polyrhizus*. Antosianin berperan sebagai pigmen warna pada tumbuhan, sehingga pada buah naga merah yang khas akan warnanya yang kuat, terdapat kadar antosianin yang tinggi.⁹ Selain sebagai fitoestrogen, antosianin juga memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi, sehingga mampu mencegah steatosis menjadi steatohepatitis, fase lanjutan pada NAFLD.¹⁰

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan *randomized post-test only control group* yang sudah disetujui oleh komisi etik penelitian FK Unud. Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina berusia 3 sampai 4 bulan dengan berat 180-220 gram yang sudah menjalani prosedur ovariectomi bilateral dan memenuhi baik kriteria inklusi maupun eksklusi. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok dengan jumlah sampel di masing-masing kelompok ditentukan menggunakan rumus Federer hingga diperoleh jumlah sampel per kelompok adalah 9. Sebagai upayaantisipasi ada tikus yang mati, maka subjek penelitian di setiap kelompok ditambah 1, sehingga total ada 30 hewan coba yang terbagi menjadi 3

kelompok perlakuan secara acak. Kelompok yang dimaksud adalah P0 sebagai kontrol negatif yang hanya diberikan normal *saline* 1 ml/hari tanpa ekstrak etanol kulit buah naga merah, P1 yang diberikan ekstrak etanol kulit buah naga merah sebanyak 60mg/200grBB/hari, dan P2 dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 90mg/200grBB/hari. Perlakuan ini dilakukan selama 30 hari.

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang digunakan berasal dari supermarket di Denpasar dengan kulit yang sudah matang dan berwarna merah. Kemudian dibuat ekstrak dengan cara dipisah terlebih dahulu kulit dengan dagingnya, lalu dicuci dengan air bersih dan mengalir. Kulit kemudian dirajang, dikeringkan, kemudian dipanggang, diblender untuk menjadi simplisia kasar, dan diayak untuk menjadi simplisia halus. Simplisia kemudian dimaserasi dengan larutan etanol 96%, menggunakan rasio 1:7 selama 3 hari dan diaduk sebanyak 2 kali sehari. Maserat kemudian akan dipisah dengan kertas saringan dan diuap menggunakan *rotary evaporator* sehingga ekstrak kental kulit buah naga merah diperoleh.

Tikus model menopause diperoleh dengan prosedur ovariectomi menggunakan teknik *modified Ingle DJ* dan Grith JQ, dengan mencit terlebih dahulu dianestesi menggunakan ketamine berdosis 40mg/kgBB secara intramuscular, kemudian dilakukan pencukuran, sterilisasi, dan ditutup dengan doek steril. Penyayatan dilakukan secara transabdominal atas uterus sepanjang 1,5-2 cm dan dilakukan selapis demi selapis hingga menembus peritoneum. Oviduk dan ovarium kemudian dicari, dibersihkan dari jaringan lemak dan ikat, kemudian diikat dan diangkat, baik yang kanan maupun yang kiri. Luka insisi kemudian ditutup dan terapi se usai operasi adalah injeksi gentamisin dengan dosis 60-80mg/kgBB/hari selama 3 hari. Mencit yang sudah diovariectomi diistirahatkan selama seminggu dan diberi pakan standar 20 gram. Namun, pada hari kelima usai operasi, terdapat satu ekor mencit dari kelompok P0 yang mati akibat infeksi. Hepar mencit tersebut masih diambil untuk dilihat di bawah mikroskop.

Sampel hati yang digunakan adalah sampel yang berukuran 1x1x1 yang diwarnai dengan hematoxilin-eosin (HE). Tiap preparat kemudian dilihat di bawah mikroskop cahaya dan difoto dengan perangkat lunak *OptiLab* dengan pembesaran 1000x pada 6 lapangan pandang guna melihat steatosis. Penilaian preparat adalah dengan menghitung jumlah inti sel yang mengalami steatosis, ditandai dengan adanya vakuola lemak berwarna putih pada sitoplasma hepatosit pada 1 lapangan pandang. Angka ini kemudian dibagi dengan jumlah total inti sel yang ada pada 1 lapangan pandang yang sama, sehingga didapatkan proporsi sel steatosis, dan dikali 100 untuk mendapatkan angka sel steatosis per 100 sel. Ketika hepar dari kelompok P0 yang mati di hari ke-5 diamati, didapatkan nilai yang sangat ekstrim. Nilai ekstrim juga didapatkan pada kelompok P1 dan P2, sehingga untuk menjaga

distribusi dan signifikansi data, nilai ekstrim tiap kelompok dieksklusi. Dari sini didapatkan total sampel penelitian adalah 27, dengan 9 sampel per kelompok. Jumlah ini masih memenuhi untuk dilakukan uji statistik berdasarkan rumus Federer.

Hasilnya kemudian dijadikan persentase, dan dianalisis menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel* dan *IBM SPSS Statistics 25.0*. Analisis yang dilakukan meliputi uji deskriptif untuk melihat rerata setiap kelompok, uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene's Statistics*. Data ditemukan terdistribusi secara normal dan bersifat homogen, maka dilanjutkan dengan uji komparabilitas menggunakan *One Way ANOVA*, dan terakhir untuk melihat perbandingan antara dua kelompok dilakukan uji *Post Hoc LSD*.

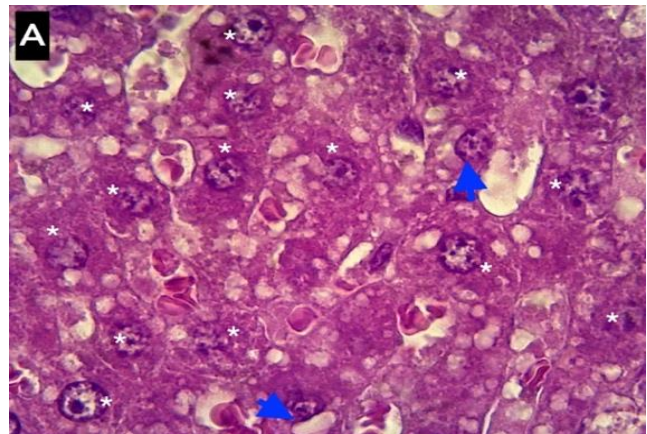
3. HASIL

Setelah diamati dengan mikroskop cahaya, didapatkan bahwa sel penyusun parenkim hepar adalah hepatosit, dengan bentuk kubus atau kubikal, sitoplasma yang eosinofilik, dan nukleus bulat dan nukleolus yang jelas (**Gambar 1**). Perlemakan pada hepatosit dapat diamati dengan melihat adanya vakuola lemak yang berwarna putih pada pengecatan HE. Pada beberapa hepatosit dapat diamati bahwa ada dua inti sel atau disebut sel dengan binukleus, yang merupakan penemuan normal pada hepatosit.

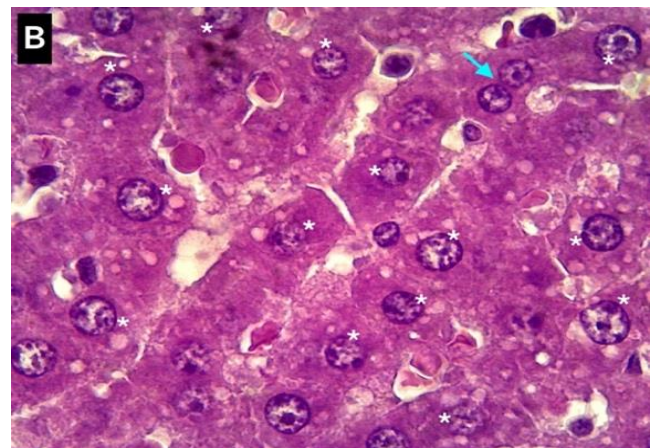
Pada kelompok P0 atau kelompok kontrol (**Gambar 1**), dapat dilihat diamati bahwa bentuk sel hepatosit sudah tidak lagi berbentuk kuboidal, batas antara satu sel dengan yang lain juga sudah tidak terlalu jelas, dan hampir di seluruh sel terdapat vakuola yang berisi lemak atau dikenal dengan mikrosesikuler steatosis. Contoh sel yang mengalami mikrosesikuler steatosis ditandai dengan tanda bintang putih dan tampak bahwa perlemakan terjadi di setiap sel. Ada beberapa vakuola lemak yang mulai mendorong inti sel ke tepi, yang ditandai dengan panah biru tua.

Pada kelompok P1 atau kelompok yang diberikan ekstrak etanol kulit buah naga merah sebesar 60mg/200grBB setiap harinya (**Gambar 2**) dapat diamati bahwa bentuk sel bervariasi, ada yang berbentuk kuboidal, ada yang mengalami perubahan dan membesar. Batas antara satu sel dengan yang lain di kelompok ini lebih jelas terlihat dan ada sel binukleat yang ditunjukkan dengan panah warna biru muda. Vakuola-vakuola lemak yang menandakan adanya steatosis mikrosesikuler masih terlihat, namun tidak sebanyak dan menyeluruh seperti pada kelompok kontrol.

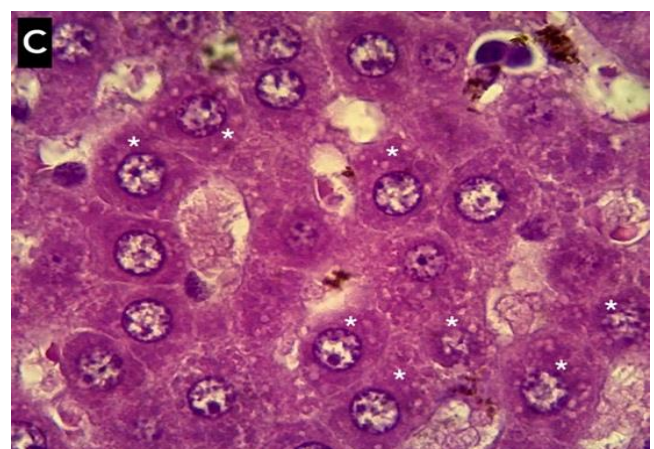
Pada kelompok P2 (**Gambar 3**) atau kelompok dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah 90mg/200grBB, ditemukan hepatosit yang hampir normal, dengan mayoritas hepatosit berbentuk kuboidal dan tampak seragam, batas antara sel yang jelas, vakuola lemak yang menandakan terjadinya mikrosesikuler steatosis tidak sebesar dan sebanyak yang ditemukan di kelompok lain.



Gambar 1. Gambaran histologi jaringan parenkim hepar perbesaran 1000X di kelompok P0, ditemukan vakuola lemak yang mulai mendorong nukleus (panah biru) dan contoh sel yang mengalami steatosis mikrosesikuler (bintang putih)



Gambar 2. Gambaran histologi jaringan parenkim hepar perbesaran 1000X di kelompok P1, terdapat gambaran sel binukleat (panah biru muda) dan contoh sel steatosis dengan vakuola yang tidak sebesar kelompok kontrol (bintang putih)



Gambar 3. Gambaran histologi jaringan parenkim hepar perbesaran 1000X di kelompok P2, contoh sel steatosis ditunjukkan dengan simbol bintang putih

Berdasarkan hasil uji deskriptif (**Tabel 1**) yang dilakukan, didapatkan rerata persentase sel steatosis tertinggi terdapat pada kelompok P0, kemudian disusul dengan kelompok P1 dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah 60mg/200grBB/hari dan steatosis paling rendah didapatkan pada kelompok P2 atau kelompok dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 90mg/200grBB/hari.

Tabel 1. Rerata sel steatosis kelompok subjek

Kelompok	Mean (%)	N	Std. Deviasi (%)
P0	59,1259	9	10,0087
P1	53,0435	9	14,0674
P2	41,5001	9	10,5814

Data tersebut kemudian diuji normalitas distribusinya dengan uji *Shapiro-Wilk* dan ditemukan bahwa semua kelompok data berdistribusi secara normal (semua kelompok memiliki nilai $p > 0,05$). Uji homogenitas dengan *Levene's Statistics* menemukan bahwa data bersifat homogen ($p = 0,349$). Uji komparabilitas antar kelompok dilakukan dengan menggunakan uji statistik parametrik *One Way ANOVA*. Dari uji ini ditemukan bahwa ada perbedaan bermakna antar rerata steatosis ketiga kelompok subjek ($p = 0,013$).

Uji *Post Hoc* LSD dilakukan dengan tujuan untuk melihat perbedaan yang bermakna secara statistic antar dua kelompok perlakuan. Hasil yang ditemukan pada uji ini adalah perbedaan rerata sel steatosis hepar antara kelompok P0 dan P1 tidak signifikan, sedangkan antara P0 dan P2, serta P1 dan P2, keduanya memiliki perbedaan rerata yang signifikan (**Tabel 2**).

Tabel 2. Hasil uji menggunakan *Post Hoc* LSD terhadap tiga kelompok subjek

Kelompok Uji	IK 95%		Nilai p
	Minimum	Maksimum	
P0 vs P1	-5,2920	17,4568	0,281
P0 vs P2	6,2513	29,0003	0,004
P1 vs P2	0,1690	22,9179	0,047

4. PEMBAHASAN

Penelitian ini menemukan bahwa tikus model menopause yang kehilangan estrogen selama satu bulan akan mengalami steatosis. Penelitian oleh Hart-Unger dkk., (2017) menemukan bahwa reseptor estrogen alfa berperan besar dalam penumpukan lemak dan steatosis mikrovesikular pada hepar mencit. Berkurangnya estrogen

pada wanita menopause mampu meningkatkan kejadian steatosis, menyebabkan wanita menopause lebih rentan terkena penyakit NAFLD.¹² Steatosis yang berlebihan juga akan menyebabkan stres oksidatif dan inflamasi, mempercepat kondisi pasien masuk ke fase steatohepatitis.¹⁰

Deposit lemak yang terdapat pada sel hepar adalah trigliserida, yang berasal dari asam lemak dan berubah menjadi VLDL agar bisa keluar dari hepar.¹³ Penumpukan lemak pada sel hepar disebabkan oleh berkurangnya estradiol yang berikatan dengan reseptor estrogen alfa, melalui mekanisme lipogenesis dengan meningkatnya enzim *fatty acid synthase* sehingga asam lemak akan lebih banyak terbentuk, berubah menjadi trigliserida, dan menjadi deposit lemak di sel hepar.¹⁴ Berkurangnya estrogen juga mampu mengurangi transpor VLDL ke luar hepar, dikarenakan transport VLDL memerlukan apolipoprotein B100. Ditemukan bahwa apolipoprotein B100 berkurang ketika dalam keadaan defisiensi estrogen dan estrogen mampu meningkatkan tingkat produksi dari apolipoprotein B100.¹⁵

Pada ekstrak kulit buah naga merah, ditemukan adanya suatu senyawa antioksidan yang bernama antosianin, yang bersifat fitoestrogen. Sifat fitoestrogen ini didapatkan karena antosianin mampu berikatan dengan reseptor estrogen, baik reseptor estrogen alfa maupun reseptor estrogen beta, sehingga antosianin mampu menggantikan peran estrogen pada tubuh.⁸ Antosianin yang bertanggung jawab akan warna merah keunguan pada kulit buah naga merah juga ditemukan di berbagai buah-buahan maupun umbi-umbian seperti ubi jalar ungu, bawang merah, murbei, stroberi, hinggur.¹⁶

Dari penelitian ini, didapatkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah terhadap steatosis tikus model menopause, dilihat dari rerata jumlah sel yang mengalami steatosis paling banyak adalah kelompok P0 atau kontrol negatif, dimana steatosis atau perlemakan yang terjadi hampir menyeluruh pada setiap sel hepar dalam satu lapangan pandang. Sedangkan pada kelompok P1 dan P2 atau dengan pemberian ekstrak kulit buah naga merah, ditemukan bahwa jumlah sel yang mengalami steatosis berkurang jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Bisa diartikan, perlemakan hati yang terjadi mampu ditekan dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah. Penelitian ini memiliki penemuan serupa dengan penelitian oleh Thadeus dkk. dimana pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 60mg/200grBB setiap harinya selama 8 minggu dan 16 minggu mampu menekan steatosis pada hepar jika dibandingkan dengan kelompok yang hanya mendapat pakan tinggi lemak. Selain itu, penelitian oleh Nanashima dkk. (2020) dengan menggunakan ekstrak kismis hitam yang mengandung antosianin menemukan bahwa steatosis hepar pada tikus model menopause dapat ditekan dengan pemberian ekstrak selama 3 bulan. Ditambah, antosianin yang terdapat pada ekstrak kismis hitam dapat mengurangi gen pemicu inflamasi seperti TNF-a, IL-6, dan IL-1B sehingga kejadian steatohepatitis mampu dicegah.

Perbedaan hasil antara kelompok kontrol atau P0, P1, dan P2 dikarenakan dosis ekstrak yang diterima berbeda-beda. Pada penelitian ini, kelompok P2 membuahkan hasil yang paling baik dengan bentuk sel yang hampir seragam dan batas antar sel yang tegas. Rerata steatosis yang ditemukan pada kelompok ini juga paling sedikit di antara semua kelompok lain. Ketika dilakukan uji *Post Hoc* LSD untuk melihat apakah perbedaan setiap dua kelompok bermakna atau tidak, didapatkan bahwa ketika P2 dibandingkan P0 dan P1, hasilnya ditemukan signifikan dengan $p < 0,05$ ($p = 0,004$ dan $p = 0,047$), meskipun beda dosis antara P1 dan P2 adalah 30 mg per harinya. Dari sini bisa disimpulkan bahwa pemberian ekstrak dengan dosis 90mg/200grBB perhari merupakan dosis paling efektif untuk menekan steatosis yang terjadi di hepar. Pernyataan ini didukung juga oleh penelitian yang dilakukan oleh Paramita dkk., dimana kelompok yang paling baik hasilnya adalah kelompok dengan dosis ekstrak tertinggi, dikarenakan mengandung lebih banyak senyawa antosianin.

Melalui uji *Post Hoc* LSD, ditemukan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 60mg/200grBB tidak menghasilkan perbedaan yang bermakna jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol dikarenakan nilai $p = 0,281$ atau $p \geq 0,05$. Selain dosis, diteorikan bahwa durasi pemberian ekstrak juga memiliki peran terhadap jumlah steatosis. Pada penelitian yang dilakukan oleh Thadeus dkk. di tahun 2019, pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis yang sama (60mg/200grBB/hari) namun dengan durasi intervensi selama 8 minggu dan 16 minggu menghasilkan perbedaan yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (pakan tinggi lemak). Lalu ketika kedua kelompok tersebut dibandingkan, ditemukan bahwa derajat keparahan steatosis lebih rendah pada kelompok dengan intervensi selama 16 minggu. Hal ini berarti, semakin lama durasi intervensi, semakin baik pula efek yang dihasilkan oleh ekstrak etanol kulit buah naga merah dalam menekan steatosis hepar.

Berdasarkan uraian di atas, ekstrak etanol kulit buah naga merah yang mengandung antosianin yang merupakan fitoestrogen kemungkinan dapat memperbaiki kondisi hepar yang mengalami steatosis akibat menopause. Efeknya paling banyak terlihat di kelompok P2, namun dikarenakan efektivitas ekstrak dipengaruhi oleh dosis dan durasi intervensi, masih perlu diteliti lebih jauh lagi untuk mendapatkan dosis optimum dan durasi intervensi dari antosianin pada ekstrak etanol kulit buah naga merah yang dapat mengurangi steatosis hepar di tikus model menopause.

5. SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang diberikan pada tikus model menopause mampu menurunkan steatosis atau perlemakan hati. Efek dari ekstrak etanol kulit buah naga merah

terhadap steatosis hepar paling bisa diamati pada kelompok dengan pemberian dosis 90mg/200grBB /hari.

Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini antara lain:

1. Diperlukan penelitian lanjutan dengan dosis ekstrak etanol kulit buah naga merah serupa dengan durasi penelitian yang lebih lama.
2. Diperlukan penelitian serupa dengan penambahan kelompok subjek kelompok mencit normal tanpa ovariektomi.
3. Diperlukan penelitian serupa disertai dengan pemberian diet tinggi lemak.
4. Diperlukan penelitian lanjutan dengan dosis ekstrak etanol kulit buah naga merah yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Monteleone P, Mascagni G, Giannini A, Genazzani AR, Simoncini T. Symptoms of menopause - global prevalence, physiology and implications. *Nat Rev Endocrinol.* 2018 Apr;14(4):199–215.
2. Potter B, Schrager S, Dalby J, Torell E, Hampton A. Menopause. *Prim Care.* 2018 Dec;45(4):625–41.
3. Kumar RS, Goyal N. Estrogens as regulator of hematopoietic stem cell, immune cells and bone biology. *Life Sci.* 2021 Mar;269:119091.
4. Lee C, Kim J, Jung Y. Potential Therapeutic Application of Estrogen in Gender Disparity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis. *Cells.* 2019 Oct;8(10).
5. Robeva R, Mladenović D, Vesković M, Hrnčić D, Bjekić-Macut J, Stanojlović O, et al. The interplay between metabolic dysregulations and non-alcoholic fatty liver disease in women after menopause. *Maturitas.* 2021 Sep;151:22–30.
6. Summart U, Thinkhamrop B, Chamadol N, Khuntikeo N, Songthamwat M, Kim CS. Gender differences in the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the Northeast of Thailand: A population-based cross-sectional study. *F1000Research.* 2017;6:1630.
7. Marjoribanks J, Farquhar C, Roberts H, Lethaby A, Lee J. Long-term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women. *Cochrane database Syst Rev.* 2017 Jan;1(1):CD004143.
8. Rietjens IMCM, Louisse J, Beekmann K. The potential health effects of dietary phytoestrogens. *Br J Pharmacol.* 2017;174(11):1263–80.
9. Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res [Internet].* 2017 Aug 13;61(1):1361779. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28970777>
10. Molina-Molina E, Furtado GE, Jones JG, Portincasa P, Vieira-Pedrosa A, Teixeira AM, et al. The advantages of physical exercise as a preventive strategy against NAFLD in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest* [Internet]. 2022 Mar 1;52(3):e13731. Available from: <https://doi.org/10.1111/eci.13731>
 11. Hart-Unger S, Arao Y, Hamilton KJ, Lierz SL, Malarkey DE, Hewitt SC, et al. Hormone signaling and fatty liver in females: analysis of estrogen receptor α mutant mice. *Int J Obes* [Internet]. 2017;41(6):945–54. Available from: <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.50>
 12. Yang JD, Abdelmalek MF, Pang H, Guy CD, Smith AD, Diehl AM, et al. Gender and menopause impact severity of fibrosis among patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2014 Apr;59(4):1406–14.
 13. Alves-Bezerra M, Cohen DE. Triglyceride Metabolism in the Liver. *Compr Physiol*. 2017 Dec;8(1):1–8.
 14. Chen KL, Madak-Erdogan Z. Estrogens and female liver health. *Steroids* [Internet]. 2018;133(October):38–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.10.015>
 15. Lamon-Fava S, Diffenderfer MR, Barrett PHR, Wan WY, Postfai B, Nartsupha C, et al. Differential Effects of Estrogen and Progestin on Apolipoprotein B100 and B48 Kinetics in Postmenopausal Women. *Lipids* [Internet]. 2018 Feb 1;53(2):167–75. Available from: <https://doi.org/10.1002/lipd.12011>
 16. Valenti L, Riso P, Mazzocchi A, Porrini M, Fargion S, Agostoni C. Dietary anthocyanins as nutritional therapy for nonalcoholic fatty liver disease. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2013/10/24. 2013;2013:145421. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24282628>
 17. Thadeus MS, Fauziah C, Zulfa F, Anisah. The Effect of Red Dragon Fruit Extract (*Hylocereus Polyrhizus*) on Membrane Lipid Peroxidation and Liver Tissue Damage Triggered by Hyperlipidemia in White Rats (*Rattus Norvegicus*). 2019;13(Ich 2018):187–95.
 18. Nanashima N, Horie K, Yamanouchi K, Tomisawa T, Kitajima M, Oey I, et al. Blackcurrant (*Ribes nigrum*) extract prevents dyslipidemia and hepatic steatosis in ovariectomized rats. *Nutrients*. 2020;12(5):1–10.
 19. Paramita NPC, Sugiritama IW, Linawati NM, Ratnayanti IGAD, Wahyuniari IAI, Arijana IGKN, et al. EKSTRAK ETANOL UBI JALAR UNGU (*IPOMOEA BATATAS L.*) MENURUNKAN DEGENERASI LEMAK JARINGAN HATI TIKUS YANG DIOVARIEKTOMI. *E-jurnal Med*. 2019;8(5).