

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA MERAH (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*) TERHADAP DEPOSISI KOLAGEN PADA HEPAR TIKUS MODEL MENOPAUSE

Eduardo Kenjiro¹, I Gusti Kamasan Nyoman Arijana², I Wayan Sugiritama², I Gusti Ayu Dewi Ratnayanti²
departemen histologi

¹. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

². Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

e-mail: eduardo.kenjiro@kanisius.org

corresponding author : nyomanarijana@unud.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang : Estrogen adalah hormon steroid yang tak hanya menjadi hormon primer seksual pada Wanita, tetapi juga berfungsi melindungi tubuh dari begitu banyak kondisi kerusakan, utamanya pada hepar. Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diketahui memiliki potensi antioksidan yang lebih tinggi daripada daging buahnya dan berpeluang menjadi solusi alternatif bagi kondisi ini.

Tujuan : Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit *Hylocereus polyrhizus* terhadap deposisi kolagen pada hepar tikus wistar model menopause.

Metode : Penelitian *randomized post-test only control group design* ini dilakukan pada hewan coba *in vivo* berupa tikus yang sudah melalui prosedur ovariectomi dan secara acak dibagi ke dalam tiga kelompok. Kelompok P0 sebagai kontrol tanpa intervensi, P1 dengan intervensi ekstrak etanol kulit buah naga merah dosis 60mg/200grBB/hari, dan P2 dengan intervensi ekstrak etanol kulit buah naga merah dosis 90mg/200grBB/hari.

Hasil : Dari 30 tikus yang dibagi menjadi tiga kelompok, didapatkan rerata luas deposisi kolagen tikus model menopause pada kelompok P0 (24,130 ± 7,205), P1 (18,325 ± 4,221), dan P2 (12,576 ± 3,739). Hasil uji dengan *One Way ANOVA* ditemukan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai $p = 0,000189$. Hasil uji *Post Hoc LSD* ditemukan perbedaan rerata yang bermakna antara kelompok P0 dengan P2 ($p = 0,00017$).

Simpulan : Pemberian ekstrak etanol kulit buah *Hylocereus polyrhizus* menghambat perluasan deposisi kolagen pada hepar kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan hepar kelompok kontrol.

Kata kunci : *Hylocereus polyrhizus*, kolagen, hepar, menopause.

ABSTRACT

Background : Estrogen is a steroid hormone that is not only the primary sexual hormone in women, but also functions to protect the body from many damaging conditions, especially in the liver. Red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) rind is known to have a higher antioxidant potential than the fruit flesh and has the potential to be an alternative solution for this condition.

Objective : To determine the effect of giving *Hylocereus polyrhizus* rind extract on collagen deposition in the livers of menopausal wistar rats.

Methods : This randomized post-test only control group design study was conducted on *in vivo* experimental animals in the form of rats that had undergone the ovariectomy procedure and were randomly divided into three groups. Group P0 served as the control without intervention, P1 with the intervention of ethanol extract of red dragon fruit rind at a dose of 60 body weight/200gr/day, while P2 with the intervention at a dose of 90 body weight/200grBB/day.

Results : Of the 30 mice divided into three groups, the mean area of collagen deposition was obtained in the P0 (24,130 ± 7,205), P1 (18,325 ± 4,221) and P2 groups (12,576 ± 3,739). The test results with *One Way ANOVA* found a significant difference with a value of $p = 0.000189$. The results of the *LSD Post Hoc* test found a significant difference in mean between the P0 and P2 groups ($p = 0.00017$).

Conclusion : Administration of *Hylocereus polyrhizus* ethanol extract inhibited the expansion of collagen deposition in the treatment group's livers when compared to the control group's livers.

Keywords : *Hylocereus polyrhizus*, collagen, liver, menopause.

1. PENDAHULUAN

Menopause adalah sebuah kondisi fisiologis yang terjadi pada wanita yang telah mencapai umur tertentu. Diperkirakan di Indonesia rata-rata umur wanita menopause adalah 50-52 tahun dan rata-rata umur Wanita premenopause adalah 40-49 tahun. Di luar konteks usia, menopause terjadi pada wanita yang sudah henti haid selama setidaknya 12 bulan atau satu tahun akibat penurunan aktivitas folikel ovarium. Penurunan aktivitas folikel ovarium tersebut berimplikasi pada berubahnya status hormonal wanita yang bersangkutan. Dengan begitu besarnya populasi penduduk wanita di Indonesia, 127.094.968 jiwa lebih tepatnya menurut data Pusdatin Kemenkes RI, hal ini perlu menjadi sorotan lantaran banyaknya keluhan yang akan dihadapi oleh wanita menopause.¹

Estrogen adalah hormon steroid yang berfungsi sebagai hormone primer seksual pada wanita. Terdapat tiga jenis utama dari estrogen, yaitu estron (E1), estradiol (E2), dan estriol (E3). Estradiol (E2) menjadi jenis yang paling dominan.² Secara umum, estrogen memiliki beragam fungsi, beberapa diantaranya adalah meningkatkan angiogenesis, meningkatkan vasodilatasi, melindungi mitokondria, melindungi dari fibrosis, dan melindungi dari stress oksidatif. Fungsi dan peran protektif estrogen inilah yang menjadikannya begitu esensial dalam upaya menjaga homeostasis tubuh wanita. Dalam konteks wanita yang mengalami menopause, ketidaktersediaan estrogen menjadi permasalahan besar karena implikasinya yang luas bagi tubuh.³

Menduduki predikat organ terbesar kedua dalam tubuh manusia, liver atau hepar merupakan salah satu organ yang esensial lantaran 3 fungsi utamanya, yaitu digesti, imunitas, dan penyimpanan nutrisi. Tugas penting yang hepar miliki adalah untuk melakukan filtrasi bagi darah yang masuk dari saluran pencernaan sebelum diedarkan kembali ke seluruh tubuh.⁴ Pada wanita menopause, ketidaktersediaan estrogen menjadi permasalahan besar lantaran properti antioksidan yang dimiliki estrogen. Tanpa estrogen, tubuh wanita menopause akan kehilangan salah satu instrumen protektif terhadap stres oksidatif yang mereka miliki. Implikasinya adalah semakin merajalelanya radikal bebas berupa *reactive oxygen species* (ROS) dan menjadikan kerusakan jaringan bertambah parah. Kerusakan yang kronis dan minimnya proteksi dari radikal bebas ini biasanya diakhiri dengan terbentuknya fibrosis hepar.⁵

Dalam upaya untuk meminimalkan efek negatif dari kurangnya hormon estrogen dalam tubuh, *hormone replacement therapy* (HRT) dipandang berhasil membantu meringankan gejala-gejala pada wanita menopause. Namun, sayangnya penelitian terakhir menemukan potensi negatif dari penggunaan HRT tersebut, seperti meningkatnya risiko kanker payudara, stroke, dan thrombosis vena. Konsekuensi dengan hal itu, banyak wanita menopause yang kemudian

mencari alternatif dari HRT dan ditemukan bahwa fitoestrogen dapat menjadi jawaban. Tidak hanya dapat berikatan dengan reseptor estrogen, fitoestrogen juga memiliki properti menyerupai estrogen. Didapatkan dari berbagai buah-buahan dan sayuran, fitoestrogen dapat menjadi alternatif untuk memperbaiki keseimbangan hormon pada wanita menopause tanpa efek samping dari HRT.⁶

Berbagai produk makanan, terutama buah-buahan seringkali dijadikan sumber utama antioksidan dan fitoestrogen. Salah satu dari buah ini adalah pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) atau yang lebih dikenal sebagai buah naga merah. Berbagai penelitian mendeskripsikan buah naga merah sebagai buah yang memiliki properti antioksidan dan oleh karenanya sering dijadikan sumber makanan, salah satu olahannya adalah jus buah naga merah. Namun, biasanya bagian yang diolah adalah daging buahnya, sementara kulit buahnya yang menyusun 20-22% dari total buah naga merah biasanya dibuang. Hal ini sangat disayangkan sebab beberapa penelitian menemukan bahwa kulit buah naga merah justru memiliki potensi antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan daging buahnya.^{7,8} Manfaat dari kulit buah naga merah tersebut mendasari ketertarikan penulis sehingga pada penelitian ini akan ditelusuri efek pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah terhadap jumlah kolagen pada hepar tikus wistar model menopause.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan *randomized post-test only control group design* pada hewan coba *in vivo* yang telah disetujui oleh komisi etik penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Hewan coba yang digunakan berupa tikus betina sehat strain Wistar dewasa dengan massa tubuh sekitar 180-220 gram yang telah diovariectomi bilateral dan telah memenuhi kriteria inklusi maupun eksklusif. Sampel dibagi secara acak menjadi 3 kelompok dengan jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Federer hingga diperoleh jumlah sampel per kelompok adalah 9, kemudian untuk mengantisipasi ada tikus yang mati maka setiap kelompok ditambah 1, sehingga total ada 30 hewan coba yang terbagi menjadi 3 kelompok. Kelompok P0 sebagai kontrol tanpa intervensi yang hanya diberikan normal saline 1 ml/hari, kelompok P1 dengan intervensi berupa ekstrak etanol kulit buah naga merah berdosis 60mg/200grBB/hari, dan kelompok P2 dengan intervensi berupa ekstrak etanol kulit buah naga merah berdosis 90mg/200grBB/hari. Perlakuan ini dilakukan selama 30 hari.

Metode Ingle DJ dan Grith JQ termodifikasi menjadi metode yang digunakan dalam ovariektomi pada tikus

betina. Pertama, dengan ketamin dosis 40 mg/kgBB, tikus dianestesi secara intramuskuler. Selanjutnya rambut pada abdomen tikus dicukur dan pada bagian tersebut dilakukan sterilisasi menggunakan savlon-betadine. Setelah ditutup dengan doek steril, selanjutnya dilakukan insisi lapis demi lapis transabdominal di atas uterus dengan perkiraan panjang 1,5 – 2 cm. Prosedur ini dilakukan hingga menembus dinding peritoneum. Berikutnya adalah mencari uterus dan diikuti dengan mencari kornu uteru-oviduk-ovarium kiri. Ovarium tikus tampak seperti anggur yang semitransparan (translusen). Setelah itu bebaskan ovarium dan oviduk dari jaringan lemak serta jaringan ikat di sekitarnya. Ligasi dan angkat ovarium serta oviduk bagian distal. Semua Langkah prosedur tersebut dilakukan pada bagian yang kanan. Setelah dilakukan eksplorasi dan tidak didapatkan perdarahan, selanjutnya jahit luka insisi lapis demi lapis. Terapi yang diberikan setelah operasi berupa injeksi gentamisin dengan dosis 60- 80mg/kgBB/hari selama tiga hari.

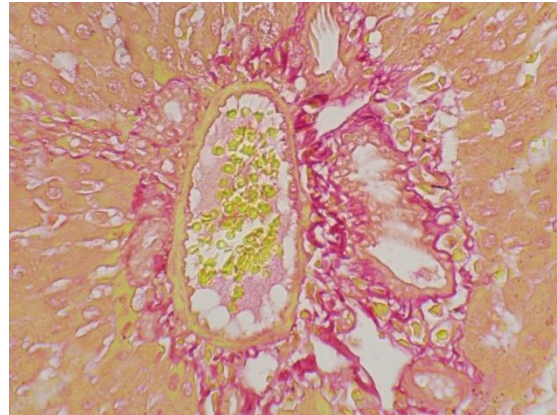
Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diperoleh dari pasar swalayan yang berlokasi di Denpasar. Pertama, kulit buah naga merah dipisahkan dari daging buahnya. Selanjutnya, kulit buah naga merah tersebut dicuci dengan air bersih dan mengalir. Setelah bersih, kulit buah naga merah tersebut dirajang (diproses) hingga tipis dan diangin-anginkan hingga kering. Proses pengeringan juga dapat menggunakan oven untuk hasil yang lebih baik. Selanjutnya, hasil rajangan tersebut diolah dengan menggunakan *blender* hingga berubah menjadi simplisia kasar. Proses diikuti dengan diayaknya simplisia kasar hingga halus. Selanjutnya adalah maserasi simplisia tersebut dalam *menstruum* berupa larutan etanol 96% dengan perbandingan 1 : 7 selama tiga hari. Pengadukan dilakukan dua kali sehari. Saat proses maserasi telah selesai, maserat dipisahkan dengan menggunakan kertas saringan, kemudian dengan menggunakan *rotary evaporator* hasil maserasi diuapkan hingga terakhir diperoleh ekstrak etanol kulit buah naga merah yang akan digunakan dalam proses berikutnya.

Tiga kelompok tikus percobaan yang telah diberi perlakuan selama 30 hari akan di determinasi tepat pada hari ke-31. Tikus betina akan dideterminasi dengan menggunakan ketamin dengan dosis 200 mg/kg BB intramuskular lalu setelah itu diambil organ ginjalnya dan ditimbang. Organ yang akan diamati selanjutnya dipotong dengan ukuran 1x1x1 cm. Preparat histologi hepar tikus betina akan dibuat menggunakan metode paraffin dengan pewarnaan picro-sirius red.

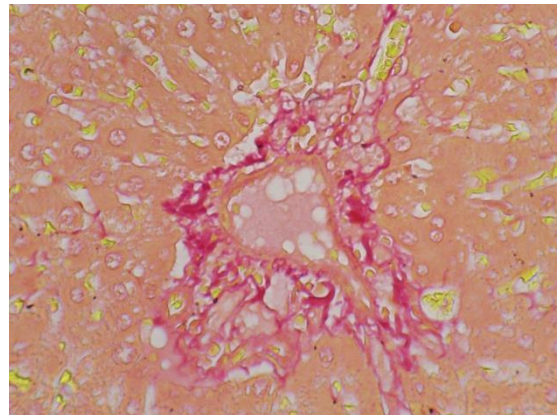
Data primer yang diperoleh berupa luas deposisi kolagen yang dihitung menggunakan aplikasi Adobe Photoshop dan ImageJ. Hasil perhitungan tersebut selanjutnya melalui uji normalitas data dan uji homogenitas subjek. Setelah hasil ditemukan signifikan dan homogen, terakhir baru dilakukan analisis menggunakan uji *One way ANOVA* serta uji *Post Hoc LSD*. Seluruh proses analisis tersebut mengutilisasi *software* SPSS For Windows versi 26.0.

3. HASIL

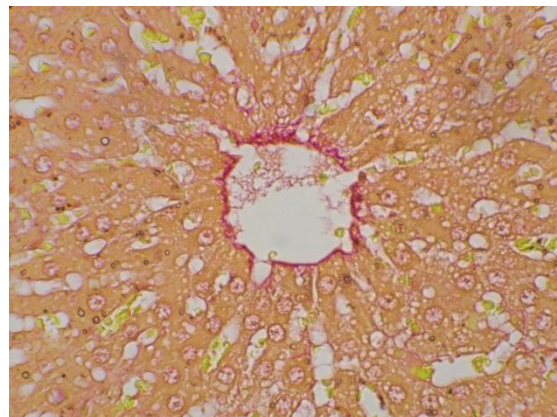
Melalui pengamatan di bawah mikroskop cahaya, preparat yang telah diberi pewarnaan Picro-Sirius Red ditemukan kolagen (warna merah) di tengah latar kuning pucat. Perbandingan gambaran histologis ketiga kelompok sampel (Kelompok P0, P1, dan P2) menunjukkan penurunan luas deposisi kolagen (merah).



Gambar 1. Gambaran Histologi Jaringan Kolagen Pada Hepar Tikus di Kelompok P0



Gambar 2. Gambaran Histologi Jaringan Kolagen Pada Hepar Tikus di Kelompok P1



Gambar 3. Gambaran Histologi Jaringan Kolagen Pada Hepar Tikus di Kelompok P2

Hasil dari uji statistik tiap kelompok subjek, didapatkan rerata luas deposisi kolagen pada hepar kelompok P0 atau kontrol adalah $24,130 \pm 7,205$, kelompok P1 atau dengan pemberian ekstrak 60 mg adalah $18,325 \pm 4,221$, dan kelompok P2 atau yang diberikan ekstrak 90 mg adalah $12,567 \pm 3,739$. Dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Luas Deposisi Kolagen Pada Hepar Tiap Kelompok Subjek

Kelompok	Mean	N	Std. Deviasi
Kontrol	24,130	10	7,205
60 mg	18,325	10	4,221
90 mg	12,567	10	3,739

Dalam upaya menguji normalitas data atau *test of normality*, penelitian ini menggunakan tes *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel yang kurang dari 50. Dari tes *Shapiro-Wilk* tersebut ditemukan bahwa semua data memiliki nilai ($p > 0,05$) yang berarti semua kelompok subjek berdistribusi secara normal. Untuk uji homogenitas penelitian ini menggunakan *Levene Statistic* dan didapatkan nilai ($p = 0,053$) sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa variansi antar kelompok subjek bersifat homogen. Untuk menguji komparabilitas antar kelompok digunakan uji statistik parametric yaitu *One Way ANOVA* dan didapatkan nilai ($p = 0,000189$) di mana hal tersebut berarti didapatkan perbedaan bermakna antar rerata ketiga kelompok subjek.

Penelitian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* yang bertujuan untuk menilai apakah antara dua perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik. Hasil yang ditemukan pada uji ini adalah perbedaan rerata luas deposisi kolagen antara kelompok kontrol yang diberi *placebo* dengan kelompok perlakuan yang diberikan intervensi berupa ekstrak etanol kulit buah naga merah berdosisi 60mg/200grBB/hari dikategorikan tidak signifikan ($p = 0,052$). Hasil serupa ($p = 0,055$) juga ditemukan antara kelompok yang diberikan ekstrak etanol kulit buah naga merah berdosisi 60mg/200grBB/hari dengan kelompok yang diberikan intervensi berdosisi 90mg/200grBB/hari. Sementara antara kelompok kontrol yang diberikan *placebo* dengan kelompok yang diberikan ekstrak etanol kulit buah naga merah 90mg/200grBB/hari memiliki perbedaan rerata yang dikategorikan signifikan ($p = 0,00017$), sebagaimana yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji *Post Hoc LSD* Terhadap Tiga Kelompok Subjek

Kelompok Uji	IK 95%		Nilai p
	Minimum	Maksimum	
Kontrol vs 60 mg	-0,052	11,662	0,052
Kontrol vs 90 mg	5,706	17,420	0,00017
60 mg vs 90 mg	-0,099	11,616	0,055

4. PEMBAHASAN

Secara umum terdapat beragam model *in vivo* untuk fibrosis hepar pada hewan percobaan, hal-hal ini adalah konsumsi alkohol, senyawa hepatoksin, senyawa karsinogenik, konsumsi makanan tinggi lemak, genetik, operasi, dan infeksi.⁹ Namun, pemilihan subjek penelitian berupa tikus sehat yang diberikan pakan standar, bukan diet tinggi lemak mengeksklusikan kemungkinan deposisi kolagen akibat beragam model. Setelah ovariectomi dan mengalami penurunan kadar estrogen, terdapat perbedaan luas permukaan kolagen pada struktur histologis hepar tikus betina yang diberi perlakuan dan tidak diberi perlakuan. Pada penelitian ini ditemukan bahwa rerata luas permukaan kolagen pada kelompok tikus yang diberikan ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 90mg/200grBB/hari secara signifikan lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak diberikan intervensi. Besar kemungkinan bahwa hal tersebut terjadi karena efek estrogenik yang didapatkan oleh kelompok tikus yang diberi perlakuan, di mana hal ini sesuai dengan temuan Yasuda M (1999) dalam penelitiannya, di mana pemberian estrogen sungguh dapat menekan fibrosis hepar pada tikus.¹⁰ Secara lebih spesifik, properti estrogenik yang menghambat terbentuknya kolagen dan beragam matriks ekstraseluler lainnya juga dibahas oleh Shimizu I (1999) dalam penelitiannya.¹¹

Dengan ovariectomi, tikus betina dalam penelitian ini mengalami menopause. Itu berarti hormon estrogen dan hormon progesteron hasil produksi ovarium mengalami penurunan kadar yang signifikan. Estrogen sendiri memiliki beragam peran penting dalam tubuh, utamanya bagi hepar. Dalam konteks tersebut, estrogen menghambat proliferasi sel stelata dan fibrogenesis. Di mana langkah penting dalam progresi fibrosis hati mencakup aktivasi sel stelata yang akan berubah menjadi *myofibroblast-like cells* dan kemudian terproliferasi serta mengekspresikan isoform aktin berupa *α smooth muscle actin (α-SMA)*. Ekspresi itulah yang kemudian menghasilkan komponen matriks ekstraseluler, berupa laminin, fibronectin, proteoglikan, dan utamanya kolagen tipe I, III, serta IV dalam jumlah besar.¹²

Pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah pada tikus betina membantu menghambat perluasan deposisi kolagen hepar setelah dilakukan ovariectomi dan mengalami menopause. Penelitian oleh Ramli N membuktikan bahwa terdapat beragam senyawa yang memiliki properti estrogenik serta hepatoprotektif pada kulit buah naga merah, seperti betasianin dan senyawa fenolik (asam fenolat dan flavonoid).¹³ Penelitian yang dilakukan Sadowska-Bartosz I (2021) menilai fungsi kandungan betasianin pada buah bit untuk hepar dan menemukan bahwa ternyata terdapat penurunan toksisitas hepar yang disebabkan oleh *N-nitrosodiethylamine* dan karbon tetraklorida pada tikus.¹⁴ Selain itu betasianin juga berkontribusi dalam induksi dari detoksifikasi fase II oleh

enzim quinon reduktase, meningkatkan status redoks dari hepar, dan meningkatkan fungsi mitokondria. Selain betalain berupa betasianin, senyawa fenolik berupa kaempferol dan kuersetin yang memberikan kapasitas antioksidan tinggi juga ditemukan dalam buah naga merah.¹⁵ Kaempferol dan kuersetin diketahui melakukan regulasi (*downregulation*) pada *inflammatory mediators* sehingga mencegah fibrosis hepar.¹⁶

Penelitian ini menemukan bahwa rerata luas deposisi kolagen pada setiap kelompok berbeda-beda. Rerata luas deposisi kolagen pada kelompok P0, P1, dan P2 (24,130; 18,325; 12,567), kemudian dibandingkan dengan menggunakan uji *Post Hoc LSD* dan didapatkan perbedaan rerata 5,805 pada P0 dan P1; 11,563 pada P0 dan P2; serta 5,758 pada P1 dan P2. Dengan ketiga nilai tersebut, kemudian didapatkan bahwa nilai p yang dapat dikategorikan sebagai signifikan hanya perbedaan P0 dan P2, sementara kedua perbedaan rerata lainnya dikategorikan tidak signifikan.

Dengan hasil analisis *Post Hoc LSD* Kontrol vs 90 mg ($p = 0,00017$) menunjukkan bahwa terjadi perbedaan luas deposisi kolagen yang signifikan antara kelompok tikus yang mendapat ekstrak etanol kulit buah naga merah dosis 90mg/200grBB/hari dengan kelompok tikus yang hanya mendapat *placebo* berupa *normal saline*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 90mg/200grBB/hari dapat melindungi hepar tikus dari deposisi kolagen yang diakibatkan berkurangnya kadar estrogen *post-menopause*. Namun ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 60mg/200grBB/hari bukan dosis optimal, karena perbedaan rerata dengan kelompok kontrol pada uji *Post Hoc LSD* menunjukkan nilai ($p = 0,052$).

5. SIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil yang ditemukan dalam penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) pada tikus model menopause menghambat perluasan deposisi kolagen pada kelompok tikus yang mendapat perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol.

Adapun saran yang dapat diberikan dari penelitian ini, yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan kelompok sampel tikus yang tidak diovariectomi.
2. Perlu dilakukan pengujian lanjutan dengan menggunakan variasi dosis ekstrak etanol kulit buah naga merah.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan sampel tikus menopause alamiah.
4. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif ekstrak etanol kulit buah naga merah pada subjek manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Novianti, R. & Yunita, P. (2019), HUBUNGAN PENGETAHUAN IBU USIA PREMENOPAUSE TENTANG MENOPAUSE DENGAN KESIAPAN MENGHADAPI MASA MENOPAUSE DI PUSKESMAS SEI PANCUR KOTA BATAM TAHUN 2017, Batam
2. Hua, H., Zhang, H., Kong, Q. & Jiang, Y. (2018), "Mechanisms for estrogen receptor expression in human cancer", *Experimental Hematology & Oncology* 2018 7:1, BioMed Central, Vol. 7 No. 1, pp. 1–11
3. Iorga, A., Cunningham, C.M., Moazeni, S., Ruffenach, G., Umar, S. & Eghbali, M. (2017), "The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy", available at: <https://doi.org/10.1186/s13293-017-0152-8>
4. Caulan, L.P. (2019), "Hepatoprotective Potential of *Hylocereus Polyrhizus* (Dragon Fruit) on Carbon Tetrachloride Induced Hepatic Damages in Albino Wistar Rats", *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR) International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, Vol. 46 No. 2, pp. 49–61.
5. Shimizu, I., Kohno, N., Tamaki, K., Shono, M., Huang, H.W., He, J.H. & Yao, D.F. (2007), "Female hepatology: Favorable role of estrogen in chronic liver disease with hepatitis B virus infection", *World Journal of Gastroenterology: WJG*, Baishideng Publishing Group Inc, Vol. 13 No. 32, p. 4295.
6. Thaug-Zaw, J., Howe, P.R.C. & Wong, R.H.X. (2017), "Does phytoestrogen supplementation improve cognition in humans? A systematic review Chemotherapy (Methotrexate)-induced bone marrow micro-vasculature damage and regeneration View project Assessment of neurovascular function and cognition in adult patients with complex congenital heart disease View project", available at: <https://doi.org/10.1111/nyas.13459>.
7. Hernawati, Setiawan, N.A., Shintawati, R. & Priyandoko, D. (2018), "The role of red dragon fruit peel (*Hylocereus polyrhizus*) to improvement blood lipid levels of hyperlipidaemia male mice", *Journal of Physics: Conference Series*, IOP Publishing, Vol. 1013 No. 1, p. 012167.
8. Yeh, W.J., Tsai, C.C., Ko, J. & Yang, H.Y. (2020), "Hylocereus polyrhizus peel extract retards alcoholic liver disease progression by modulating oxidative stress and inflammatory responses in C57Bl/6 mice", *Nutrients*, MDPI AG, Vol. 12 No. 12, pp. 1–12.
9. Yanguas, S. C., Cogliati, B., Willebrods, J., Maes, M., Colle, I., van den Bossche, B., de Oliveira, C. P. M. S., Andraus, W., Alves, V. A. F., Leclercq, I., & Vinken, M. (2016). *Experimental models of liver fibrosis*.

- Archives of toxicology, 90(5), 1025–1048. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1543-4>
10. Yasuda, M., Shimizu, I., Shiba, M., & Ito, S. (1999). Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology*, 29(3), 719–727. <https://doi.org/10.1002/hep.510290307>
 11. Shimizu, I., Mizobuchi, Y., Yasuda, M., Shiba, M., Ma, Y.-R., Horie, T., Liu, F., & Ito, S. (1999). Inhibitory effect of oestradiol on activation of rat hepatic stellate cells in vivo and in vitro. *Gut*, 44(1), 127–136. <https://doi.org/10.1136/gut.44.1.127>
 12. Brady, C.W. (2015), “Liver disease in menopause”, *World Journal of Gastroenterology: WJG*, Baishideng Publishing Group Inc, Vol. 21 No. 25, p. 7613.
 13. Ramli, N. S., Ismail, P., & Rahmat, A. (2014). Influence of conventional and ultrasonic-assisted extraction on phenolic contents, betacyanin contents, and antioxidant capacity of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *TheScientificWorldJournal*, 2014, 964731. <https://doi.org/10.1155/2014/964731>
 14. Sadowska-Bartosz, I., & Bartosz, G. (2021). Biological Properties and Applications of Betalains. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(9), 2520. <https://doi.org/10.3390/molecules26092520>
 15. Attar, Ş. H., Gündeşli, M. A., Urün, I., Kafkas, S., Kafkas, N. E., Ercisli, S., Ge, C., Mlcek, J., & Adamkova, A. (2022). Nutritional Analysis of Red-Purple and White-Fleshed Pitaya (*Hylocereus*) Species. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(3), 808. <https://doi.org/10.3390/molecules27030808>
 16. Saha, P., Talukdar, A. D., Nath, R., Sarker, S. D., Nahar, L., Sahu, J., & Choudhury, M. D. (2019). Role of Natural Phenolics in Hepatoprotection: A Mechanistic Review and Analysis of Regulatory Network of Associated Genes. *Frontiers in pharmacology*, 10, 509. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00509>