

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA MERAH (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*) TERHADAP EKSPRESI KOLAGEN DINDING VAGINA PADA TIKUS MODEL MENOPAUSE

Dhila Cahya Rahmanita¹, I Wayan Sugiritama², I Gusti Ayu Dewi Ratnayanti², Ida Ayu Ika Wahyuniari²

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

²Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

e-mail: dhilacahyar@gmail.com

ABSTRAK

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki kandungan polifenol terutama antosianin yang dapat berperan sebagai fitoestrogen dan antioksidan. Fitoestrogen membantu sintesis kolagen melalui ikatannya dengan reseptor estrogen dan antioksidan mencegah penumpukan radikal bebas yang dapat merusak kolagen, sehingga kulit buah naga merah berpotensi untuk mencegah gangguan pada organ vagina akibat menurunnya jumlah kolagen pada dinding vagina ketika menopause. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efektivitas pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam mencegah penurunan kolagen dinding vagina tikus model menopause. Penelitian ini disusun menggunakan *randomize post-test only control group design* pada 30 ekor tikus wistar betina yang dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol (P0) diberikan normal saline, kelompok perlakuan (P1) diberikan ekstrak etanol 60mg/200grBB dan (P2) diberikan ekstrak etanol 90mg/200grBB. Pemberian dosis pada tikus melalui oral selama 30 hari, kemudian sampel dinding vagina diambil untuk dilakukan pemeriksaan kadar kolagen vagina dengan pewarnaan *Sirius red*. Jumlah kolagen dihitung dengan persentase area piksel kolagen yang dibandingkan dengan piksel seluruh jaringan vagina. Hasil penelitian menunjukkan rerata jumlah kolagen pada P0, P1 dan P2 masing-masing 55,53±8,12; 67,50±3,89; 78,14±5,87. Uji *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan antar kelompok yang bermakna secara statistik ($p = 0,000$). Uji *Post hoc LSD* menunjukkan rerata jumlah kolagen vagina pada P2 lebih tinggi dibandingkan P0 ($p = 0,000$) dan P1 ($p = 0,001$) serta P1 lebih tinggi dari P0 ($p = 0,000$). Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit buah *Hylocereus polyrhizus* mampu mencegah penurunan kolagen dinding vagina tikus model menopause.

Kata kunci : menopause, kolagen vagina, *Hylocereus polyrhizus*

ABSTRACT

Red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel contains polyphenols, in particular anthocyanins, which may act as phytoestrogens and antioxidants. Phytoestrogens can help synthesize collagen through their bonds with estrogen receptors and antioxidants prevent the accumulation of free radicals that can damage collagen, so the skin of red dragon fruit has the potential to prevent vaginal organ disorders due to the reduced amount of collagen in the vaginal wall during menopause. This study aims to prove the effectiveness of the ethanol extract of *Hylocereus polyrhizus* rind in preventing decreased collagen in the vaginal wall of menopausal rats. This study was structured using a randomized post-test only control group design on 30 female Wistar rats, which were divided into three groups, namely the control group (P0) was given normal saline, the treatment group (P1) was given ethanol extract 60mg/200grBW and (P2) was given ethanol extract 90mg/200grBB. Dosing rats orally for 30 days, then vaginal wall samples were taken to examine vaginal collagen levels with *Sirius red* staining. The amount of collagen is calculated by the percentage area of the collagen pixels compared to the pixels of the entire vaginal tissue. The results show that the mean amount of collagen at P0, P1 and P2 is 55.53 ± 8.12 respectively; 67.50±3.89; 78.14±5.87. The One-way ANOVA test shows statistically significant differences among the

groups ($p = 0.000$). The post hoc analysis using the LSD test finds that the mean amount of vaginal collagen in P2 is the highest than P0 ($p=0.000$) and P1 ($p=0.001$) and P1 is higher than P0 ($p=0.000$). It is concluded that giving of ethanol extract of *Hylocereus polyrhizus* rind is able to prevent the decrease in vaginal wall collagen in menopausal rats.

Keywords : menopause, vaginal collagen, *Hylocereus polyrhizus*

1. PENDAHULUAN

Menopause merupakan terhentinya siklus menstruasi secara permanen yang terjadi ketika ovarium kehilangan aktivitasnya. Hilangnya aktivitas ovarium menyebabkan terjadinya keadaan hipoestrogenik yang memicu perubahan di beragam sistem maupun organ tubuh,¹ salah satunya adalah gangguan pada organ vagina yang dapat meliputi kekeringan vagina, atrofi, dyspareunia, gejala kemih, dan kelemahan pada dasar panggul. Hal ini disebabkan oleh penurunan kadar kolagen dan elastin vagina, epitel yang menipis, serta peningkatan pH vagina.² Sintesis dan sekresi fibrillar (kolagen dan elastin) merupakan tanggung jawab utama dari fibroblas.³ Estrogen berperan dalam meningkatkan ekspresi *Fibroblast associated protein* (FAP), proliferasi *fibroblast*, matriks ekstraselular dan *growth factors*. Sehingga pada wanita menopause yang mengalami keadaan hipoestrogenik akan terjadi penurunan sabut kolagen dan elastin.⁴

Deplesi estrogen juga menyebabkan terjadinya penurunan regulasi ekspresi gen penyandi enzim antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas. Radikal bebas juga dikenal sebagai spesies oksigen reaktif (ROS) yang sangat reaktif dan menyebabkan stres oksidatif. Akumulasi dari senyawa oksigen reaktif dapat meningkatkan ekspresi *matrix metalloproteinase* (MMP) yang berperan dalam degradasi kolagen.⁵

International Menopause Society merekomendasikan *Hormonal Replacement Therapy* (HRT) untuk mengganti hormon yang hilang akibat menopause.⁶ Namun ketika HRT digunakan dalam rentang waktu yang lama, risiko kanker payudara dapat meningkat.⁷ Alternatif yang sedang dikembangkan saat ini yaitu penggunaan bahan-bahan non-steroid seperti fitoestrogen dan antioksidan untuk mengatasi gejala menopause. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menstabilkan ROS dan mencegah stress oksidatif. Antosianin yang berasal dari subkelas flavonoid dapat dijumpai pada kulit buah naga merah dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan.^{8,9} Mekanisme kerjanya sebagai antioksidan yaitu dengan menangkap radikal bebas serta melakukan upregulasi enzim antioksidan intrasel.¹⁰ Antosianin juga dapat berperan sebagai fitoestrogen karena memiliki kemiripan struktur kimia dengan hormon estrogen manusia, sehingga dapat menimbulkan aktivitas menyerupai estrogen endogen (*17 β -estradiol*) melalui ikatannya dengan reseptor estrogen.¹¹ Antosianin telah terbukti mampu berikatan dengan dua jenis reseptor estrogen yaitu ER- α dan ER- β .^{12,13} Menurut penelitian oleh Saenjurng dkk.,¹⁰ kandungan senyawa flavonoid total pada kulit buah naga merah adalah $193,8 \pm 11,7$ mg QE/g dan lebih besar jika

dibandingkan dengan daging buahnya ($177,4 \pm 12,5$ mg QE/g), dimana antosianin total pada kulit buah naga merah adalah $135,4 \pm 9,3$ mg CCE/g.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu, kulit buah naga merah yang akan diekstraksi, tikus wistar betina sehat usia 3-4 bulan dengan jumlah total tiga puluh ekor serta berat sekitar 180-220gram, normal saline, akuades, ketamin, betadine, gentamisin dan etanol 96%.

Ovariektomi dilakukan menggunakan metode *Ingle DJ* dan *Grith JQ* pada tiga puluh ekor tikus wistar betina yang dilakukan oleh *Animal Laboratory Unit* Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Ekstrak etanol kulit buah naga merah dibuat dengan menambahkan etanol 96% untuk mendapatkan dua dosis berbeda yaitu 60mg dan 90mg. Sampel yang berjumlah 30 ekor dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok P0 yaitu kelompok kontrol yang diberikan normal saline, kelompok P1 yang diberikan ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 60mg/200grBB dan kelompok P2 yang diberikan ekstrak etanol kulit buah naga merah 90mg/200grBB. Pemberian oral ekstrak etanol kulit buah naga merah dilakukan selama 30 hari. Organ vagina disiapkan untuk pembuatan sediaan histologis melalui empat tahapan yaitu fiksasi, dehidrasi, *clearing* dan *embedding* kemudian dipotong dengan ketebalan 5 μ m. Pewarnaan jaringan vagina menggunakan *Picrosirius Red*. Ekspresi kolagen kemudian dianalisis dan diamati dengan perbesaran 400x dibawah mikroskop cahaya, selanjutnya jumlah kolagen dilakukan penghitungan dengan *Adobe Photoshop CS4* dan *Image J*.

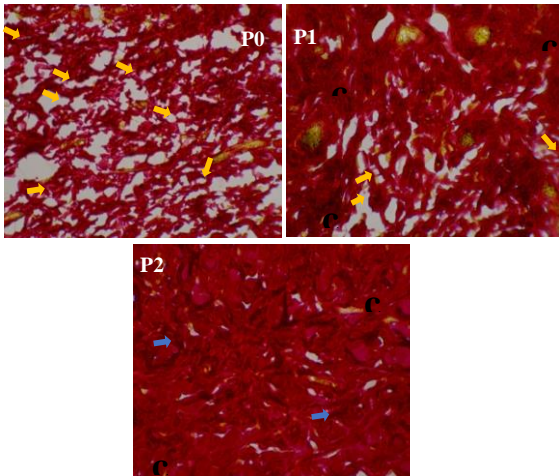
Analisis diawali dengan uji deskriptif untuk melihat karakteristik data. Kemudian data dari hasil penelitian dilakukan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal dan dilanjutkan dengan uji *Levene* untuk menilai homogenitasnya. Uji statistik pada data yang homogen dan berdistribusi normal dilakukan menggunakan *One Way ANOVA* lalu dilanjutkan dengan uji LSD dari *Post Hoc*. Terdapat perbedaan bermakna pada kelompok jika ($p<0,05$). Data dianalisis menggunakan *software SPSS for Windows* versi 26.0.

3. HASIL

Kolagen pada dinding vagina tikus wistar betina diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran

400x, terlihat bahwa kelompok kontrol (P0) menunjukkan kerusakan struktur beserta komposisi dari jaringan kolagen, sehingga serat kolagen tampak tidak utuh atau terpecah-pecah (panah kuning) dan penyerapan pewarnaan *Sirius red* yang tidak optimal. Kelompok P1 menunjukkan serat kolagen berwarna merah tampak lebih lebar dan padat jika dibandingkan dengan kelompok P0, namun masih terdapat kolagen yang tidak utuh (panah kuning). Kelompok P2 menunjukkan serat kolagen berwarna merah yang utuh (panah biru), paling lebar dan padat (Gambar 1).

Rerata jumlah kolagen dinding vagina pada kelompok P0 adalah $55,53 \pm 8,12$, kelompok P1 sebesar $67,50 \pm 3,89$, dan kelompok P2 yaitu $78,14 \pm 5,87$ (Tabel 1). Uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data rerata jumlah kolagen dinding vagina berdistribusi normal ($p > 0,05$). Data diuji homogenitasnya dengan uji *Levene* dimana nilai $p = 0,186$, yang artinya data homogen. Uji *One Way ANOVA* pada data mendapati nilai $p = 0,000$ yang berarti terdapat perbedaan bermakna pada hasil rerata jumlah kolagen antar kelompok, seperti terlihat pada Tabel 2. Uji *post hoc* LSD didapatkan rerata jumlah kolagen dinding vagina pada kelompok P1 lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol dengan perbedaan rerata sebesar 11,96 (CI 95% 6,27 – 17,66; $p = 0,000$), jumlah kolagen P2 juga lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan perbedaan sebesar 22,61 (CI 95% 16,91 – 28,30; $p = 0,000$), kemudian jumlah kolagen pada P2 lebih tinggi dibandingkan dengan P1 dengan perbedaan rerata sebesar 10,64 (CI 95% 4,95 – 16,34; $p = 0,001$) (Tabel 3).



Gambar 1. Kolagen dinding vagina tikus wistar ovariektomi dengan pewarnaan *sirius red* (pembesaran 400x) kelompok kontrol (p0), ekstrak etanol 60mg (p1), ekstrak etanol 90mg (p2); C=kolagen

Tabel 1. Hasil Uji Deskriptif % Jumlah Kolagen

Kelompok	n	Rerata (%)	STD	Minimum	Maksimum
P0	10	55,53	8,12	39,70	67,67
P1	10	67,50	3,89	61,63	74,13

P2 10 78,14 5,87 71 89

Tabel 2. Uji *one way* anova terhadap hasil rerata (%) kolagen pada dinding vagina tikus wistar betina

Kelompok Uji	n	Rerata ± SB	Nilai p
Kontrol	10	55,53 ± 8,12	
Perlakuan 1	10	67,50 ± 3,89	0,000
Perlakuan 2	10	78,14 ± 5,87	

Tabel 3. Hasil *post hoc* LSD pada rerata jumlah kolagen (%) pada dinding vagina tikus wistar betina

Kelompok Uji	n	Rerata ± SB	Nilai p
Kontrol	10	55,53 ± 8,12	
Perlakuan 1	10	67,50 ± 3,89	0,000
Perlakuan 2	10	78,14 ± 5,87	

4. PEMBAHASAN

Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah dapat mencegah penurunan kolagen pada dinding vagina tikus model menopause. Hasil penelitian ini mendukung hasil penelitian sebelumnya, dimana penelitian oleh Chandramogan dkk.,⁴ membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah secara oral dapat mencegah penurunan kolagen pada kulit tikus model menopause. Penelitian mengenai pengaruh fitoestrogen dan antioksidan khususnya yang diperoleh dari kulit buah naga merah terhadap ekspresi kolagen pada dinding vagina saat kondisi menopause masih sangat terbatas. Adapun penelitian oleh Saimin dkk.,⁵ menemukan adanya potensi fitoestrogen dan antioksidan pada buah tomat, yang juga mengandung senyawa antosianin dan vitamin C serupa dengan kulit buah naga merah, dalam mengurangi ekspresi MMP-2 dan meningkatkan ekspresi kolagen tipe-I pada dinding vagina tikus menopause.

Ekstrak etanol kulit buah naga merah dapat menghambat penurunan jumlah kolagen pada vagina tikus model menopause dikarenakan beberapa senyawa yang terkandung di dalamnya seperti antosianin yang dapat bertindak sebagai fitoestrogen dan antioksidan. Antosianin memiliki struktur yang mirip dengan estrogen, sehingga ketika memasuki tubuh, antosianin akan berikatan dengan reseptor estrogen (ER- α dan ER- β) dan memberikan efek atau fungsi seperti estrogen endogen (17 β -estradiol).¹¹⁻¹³ Fibroblas memiliki reseptor estrogen α dan β dengan jumlah reseptor β yang lebih tinggi. Antosianin akan berikatan dengan ER- β pada fibroblas yang memicu sekresi molekul prokolagen, kemudian melalui katalis enzim aminopeptidase dan karboksi peptidase, prokolagen diubah menjadi tropokolagen yang membentuk kolagen fibril melalui ikatan silang yang dikatalisis oleh enzim lisil hidroksilase¹⁴.

Antosianin sebagai antioksidan bertindak sebagai *scavenger* radikal bebas yang kuat. *Reactive oxygen species*

(ROS) dapat meningkatkan transkripsi MMP yang merupakan enzim degradasi kolagen dengan mengaktivasi *mitogen-activated pathway* (MAP) kinase yang mengatur aktivitas transkripsi AP-1, kemudian ROS juga mengaktivasi *nuclear factor kappa* β (NF- κ), dimana AP-1 dan NF- κ ini merupakan faktor transkripsi yang dapat meningkatkan transkripsi MMP. *Reactive oxygen species* (ROS) juga dapat mengubah MMP dari bentuk inaktif menjadi aktif. Mulanya MMP disekresikan sebagai *zymogen* inaktif yang diikat oleh suatu pengikat seng dan dilindungi oleh residu sistein di dalam wilayah propeptida. Oksidan seperti H_2O_2 dapat memodifikasi residu tiol menjadi ikatan disulfida (RSSR), asam sulfonat (R-SOH), dan/atau asam sulfonat (R-SO₂H). Modifikasi ini akan melepaskan domain pengikat seng yang membuat ikatan tersebut tidak stabil dan menjadikan enzim MMP aktif sepenuhnya.^{15,16} Berdasarkan penelitian oleh Sun-Joong Kim, antosianin pada beras hitam mampu menekan aktivitas MMP-2 melalui pemblokiran generasi ROS.¹⁷ Penelitian oleh Wongwichai menunjukkan bahwa antosianin pada beras ungu secara efektif menghambat ekspresi MMP-1, yang diinduksi IL-1 β melalui inaktivasi NF- κ B dan ERK/ jalur MAPK.¹⁸

elektronnya untuk melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas. Vitamin C juga bertindak sebagai *scavenger* anion superoksida, radikal hidroksil, dan lipid hidroperoksida.²⁶ Melalui aktivitas antioksidan ini, vitamin C menghambat terjadinya stres oksidatif yang dapat merusak kolagen secara langsung dan mengurangi ekspresi dari MMP yang berperan dalam degradasi kolagen.²⁷ Vitamin C juga berperan dalam pembentukan kolagen, dimana asam askorbat berperan sebagai kofaktor untuk mengaktifkan enzim prolil dan lisil hidroksilase yang berperan dalam proses hidroksilasi prolilin dan lisin. Proses hidroksilasi ini akan menghasilkan hidroksilisin dan hidroksiprolin yang merupakan komponen utama

5. SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) mampu mencegah penurunan kolagen dinding vagina tikus model menopause.

Selain antosianin, kulit buah naga merah juga mengandung fenol yang merupakan antioksidan pemutus rantai yang kuat. Fenol bertindak sebagai *scavenger* oleh karena gugus hidroksilnya sehingga memungkinkan berkontribusi langsung terhadap aksi antioksidan.¹⁹ Berdasarkan penelitian senyawa fenolik pada *Quercus mongolica* menunjukkan efek penghambatan yang kuat terhadap MMP-1 dan peningkatan sintesis prokolagen tipe-I dalam fibroblas kulit manusia yang diinduksi ultraviolet.²⁰ Fenol juga dikenal sebagai fitoestrogen dengan kemampuannya berikatan dengan reseptor estrogen, sehingga mampu menginduksi proliferasi fibroblas untuk sintesis kolagen.²¹

Senyawa lainnya yang terkandung dalam kulit buah naga merah adalah alkaloid dan triterpenoid. Kedua senyawa ini mampu bertindak sebagai antioksidan.^{22,23} Selain antioksidan, alkaloid juga diketahui dapat berperan sebagai fitoestrogen melalui ikatannya dengan reseptor estrogen α .^{24,25}

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) mengandung vitamin C yang mampu menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan

pembentuk kolagen. Proses tersebut membutuhkan ion hidroksida untuk bereaksi dengan hidrogen.²⁸ Berdasarkan studi oleh Crisan dkk.,²⁹ vitamin C diketahui sangat efisien sebagai terapi peremajaan, menginduksi sintesis kolagen yang signifikan pada semua kelompok umur dengan efek samping minimal. Penelitian lainnya oleh Findik dkk.,³⁰ menyebutkan pemberian suplemen vitamin C dapat meningkatkan produksi kolagen pada ligamentum uterosakral dan kardinal tikus sehingga dapat mencegah terjadinya prolaps organ panggul dan stres inkontinensia urin.

Penelitian ini memiliki beberapa kekurangan seperti uji fitokimia yang tidak dilakukan langsung oleh peneliti, sehingga pada penelitian selanjutnya diharapkan peneliti menguji secara langsung untuk mengetahui golongan beserta jumlah atau kadar senyawa yang terkandung dalam ekstrak yang digunakan. Penelitian lebih lanjut dengan dosis serupa juga diperlukan dalam waktu yang panjang untuk mengetahui apakah terdapat efek samping yang mungkin ditimbulkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Sari NIY, Adriani RB, Mudigdo A. Effect of Menopause Duration and Biopsychosocial Factors on Quality of life of Women in Kediri District, East Java. *J Matern Child Heal*. 2017;02(02):125–36.
- Pitsouni E, Grigoriadis T, Douskos A, Kyriakidou M, Falagas ME, Athanasiou S. Efficacy of vaginal therapies alternative to vaginal estrogens on sexual function and orgasm of menopausal women: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2018.
- De Landsheere L, Munaut C, Nusgens B, Maillard C, Rubod C, Nisolle M, et al. Histology of the vaginal wall in women with pelvic organ prolapse: A literature review. In: *International Urogynecology Journal and Pelvic Floor Dysfunction*. 2013.
- Eka Adnyana IGH, Suwiyoga K, Megadhana W. Ekspresi kolagen I, elastin, dan ketebalan epitel dinding vagina paskamenopause lebih rendah dibandingkan premenopause. *Medicina (B Aires)*. 2018;
- Saimin J, Hendaro H, Soetjipto S. The effect of tomato juice on the expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and type-1 collagen on the vaginal wall of the menopausal rats. *Bali Med J*. 2019;
- Baber RJ, Panay N, Fenton A. 2016 IMS Recommendations on womens midlife health and menopause hormone therapy. *Climacteric*. 2016;
- Ahmad AD. Hormone Replacement Therapy pada Wanita Menopause Meningkatkan Risiko Terjadinya Ductal Carcinoma In Situ Hormone Replacement Therapy in Menopausal Woman Increases The Risk of Ductal Carcinoma In Situ. *Majority*. 2019;8:205–8.
- González-Paramás AM, Brighenti V, Bertoni L, Marcelloni L, Ayuda-Durán B, González-Manzano S, et al. Assessment of the in vivo antioxidant activity of an anthocyanin-rich bilberry extract using the *Caenorhabditis elegans* model. *Antioxidants*. 2020;
- David L, Danciu V, Moldovan B, Filip A. Effects of in vitro gastrointestinal digestion on the antioxidant capacity and anthocyanin content of cornelian cherry fruit extract. *Antioxidants*. 2019;
- Saenjum C, Pattananandecha T, Nakagawa K. Antioxidative and anti-inflammatory phytochemicals and related stable paramagnetic species in different parts of dragon fruit. *Molecules*. 2021;
- Lecomte S, Demay F, Ferrière F, Pakdel F. Phytochemicals targeting estrogen receptors: Beneficial rather than adverse effects? *International Journal of Molecular Sciences*. 2017.
- Nanashima N, Horie K, Tomisawa T, Chiba M, Nakano M, Fujita T, et al. Phytoestrogenic activity of blackcurrant (*Ribes nigrum*) anthocyanins is mediated through estrogen receptor alpha. *Mol Nutr Food Res [Internet]*. 2015 Dec 1 [cited 2022 Nov 2];59(12):2419–31. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mnfr.201500479>
- Nanashima N, Horie K, Maeda H. Phytoestrogenic activity of blackcurrant anthocyanins is partially mediated through estrogen receptor beta. *Molecules*. 2018;23(1).
- Ayu Purjuniatni IG, Suwiyoga K, Megadhana IW. Terdapat hubungan kadar estradiol dengan ekspresi kolagen dan elastin pada vagina premenopause dan pascamenopause. *Medicina (B Aires)*. 2018;49(2):278–83.
- Nelson KK, Melendez JA. Mitochondrial redox control of matrix metalloproteinases. *Free Radic Biol Med*. 2004;37(6):768–84.
- Kar S, Subbaram S, Carrico PM, Melendez JA. Redox-control of matrix metalloproteinase-1: A critical link between free radicals, matrix remodeling and degenerative disease. *Respir Physiol Neurobiol*. 2010;174(3):299–306.
- Kim SJ, Park YS, Paik HD, Chang HI. Effect of anthocyanins on expression of matrix metalloproteinase-2 in naproxen-induced gastric ulcers. *Br J Nutr*. 2011;106(12):1792–801.
- Wongwichai T, Teeyakasem P, Pruksakorn D, Kongtawelert P, Pothacharoen P. Anthocyanins and metabolites from purple rice inhibit IL-1 β -induced matrix metalloproteinases expression in human articular chondrocytes through the NF- κ B and ERK/MAPK pathway. *Biomed Pharmacother [Internet]*. 2019;112(October 2018):108610. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108610>
- Kumar S, Sandhir R, Ojha S. Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves. *BMC Res Notes*. 2014;
- Kim HH, Kim DH, Oh MH, Park KJ, Heo JH, Lee MW. Inhibition of matrix metalloproteinase-1 and type-I procollagen expression by phenolic compounds isolated from the leaves of *Quercus mongolica* in ultraviolet-irradiated human fibroblast cells. *Arch Pharmacol Res* 2014 381 [Internet]. 2014 Feb 7 [cited 2022 Nov 25];38(1):11–7. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12272-014-0329-1>

21. Zhang X, Wu C. In Silico, In Vitro, and In Vivo Evaluation of the Developmental Toxicity, Estrogenic Activity, and Mutagenicity of Four Natural Phenolic Flavonoids at Low Exposure Levels. *ACS Omega*. 2022;7(6):4757–68.
22. Cai C, Ma J, Han C, Jin Y, Zhao G, He X. Extraction and antioxidant activity of total triterpenoids in the mycelium of a medicinal fungus, *Sanghuangporus sanghuang*. *Sci Reports* 2019 91 [Internet]. 2019 May 15 [cited 2021 Oct 6];9(1):1–10. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-43886-0>
23. Azalea Berenguer-Rivas C, Mas-Ortiz M, L. Batista-Corbal P, Costa-Acosta J, Julio César Escalona-Arranz C. Composición química y actividad antioxidante in-vitro de extractos de *Adelia ricinella* L. Chemical composition and in-vitro antioxidant activity of extracts of *Resumen In the progressive development of medicine as a science , there has been a resurgence*. 2018;30(2):191–210.
24. Wijaya E. Penapisan virtual interaksi senyawa fenolik, alkaloid, dan saponin dengan reseptor estrogen alfa. Institut Pertanian Bogor; 2015.
25. Fitriyah F, Fitria A, Wardhani HAK. Insilico Analysis of the Potential Phytoestrogens of Selected Alkaloid from Soursop (*Annona muricata*) Leaves. *el-Hayah*. 2021;8(2):49–54.
26. Wibawa JC, Wati LH, Arifin MZ. Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik. *JOSSAE J Sport Sci Educ*. 2020;5(1):57.
27. Lin'kova NS, Polyakova VO, Kvetnoi IM. The role of matrix metalloproteinases in human thymus aging. *Adv Gerontol*. 2012;2(1):35–7.
28. DePhillipo NN, Aman ZS, Kennedy MI, Begley JP, Moatshe G, LaPrade RF. Efficacy of Vitamin C Supplementation on Collagen Synthesis and Oxidative Stress After Musculoskeletal Injuries: A Systematic Review. *Orthop J Sport Med* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2021 Oct 8];6(10). Available from: </pmc/articles/PMC6204628/>
29. Crisan D, Roman I, Crisan M, Scharffetter-Kochanek K, Badea R. The role of vitamin C in pushing back the boundaries of skin aging: an ultrasonographic approach. *Clin Cosmet Investig Dermatol* [Internet]. 2015 Sep 2 [cited 2021 Oct 9];8:463. Available from: </pmc/articles/PMC4562654/>
30. Findik RB, Ilkaya F, Guresci S, Guzel H, Karabulut S, Karakaya J. Effect of vitamin C on collagen structure of cardinal and uterosacral ligaments during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2022 Nov 2];201:31–5. Available from: <http://www.ejog.org/article/S0301211516301129/fulltext>