

PENGARUH OVARIKTOMI BILATERAL TERHADAP KOLAGEN DERMIS TIKUS WISTAR

Erma Mexcorry Sumbayak*

ABSTRACT

In menopause period, estrogen production by ovary cease. The decrease of estrogen production causes changes to physical and mental condition on menopause woman. The general feeling changes are discomfortness, and wrinkled skin. Skin of the menopause woman become thinner, lost elasticity and easy to tear due in part to mostly are decreasing dermis collagen mass. This research aims to know influence of bilateral ovariectomy (ovx) due to the decrease of estrogen level.

Thirty two female wistar rats, aged \pm 3 months, weighing 150-250 g, were divided into 4 groups, each group content of 8 rats. Group I, which are sacrificed 50 days after ovariectomy, and group II, as unovariectomized control group, was sacrificed on day 50. Group III, which are sacrificed 100 days after ovariectomy, and group IV as unovariectomized control group, was sacrificed on day 100. Skin taken away from an abdomen was put on histology slide. The histological specimens of the organs obtained was stained with Trichrome. Those slides are then analysed quantitatively using absorption of colour RGB (Red, Green, Blue) or RGB format use program of Adobe Photoshop 7.0.

The result showed no significant difference on dermis thickness, collagen staining thickness of 50 and 100 day of bilateral ovariectomy compared to control. But there are significant difference of body weight increased on 50 and 100 day bilateral ovariectomy. Inexistence of the difference is possibility the cause estrogen level decreased effect of ovariectomy is immediately replaced by estrogen from fat tissue as a result of body weight increase; estrogen from skin, represent extra-glandular estrogen biosynthesis. This research will be more accurate if the blood estrogen concentration and rate of collagen biosynthesis were also measured, and variation of perception time.

Key words: ovariectomy, dermis collagen, RGB (Red, Green, Blue) format

* Dosen Bagian Histologi FK UKRIDA

PENDAHULUAN

World Health Organization (WHO) memperkirakan bahwa pada tahun 1990, jumlah wanita di dunia yang berusia 50 tahun ke atas berjumlah 467 juta orang. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 1.200 juta orang pada tahun 2030. Sedangkan di Indonesia, pada tahun 2000 jumlah wanita berusia 50 tahun ke atas berjumlah 15,5 juta orang. ⁽²⁾

Menopause adalah suatu keadaan pada saat siklus menstruasi berhenti, yang umumnya terjadi pada rentang usia 45-52,5 tahun. Pada masa menopause, produksi estrogen oleh ovarium berhenti. Produksi estrogen pada wanita menopause hanya diperoleh dari korteks adrenal dan jaringan perifer (misalnya lemak).⁽⁹⁾ Berkurangnya produksi estrogen menyebabkan perubahan fisiologi.

Sebagian perubahan disebabkan oleh berhentinya fungsi ovarium dan sebagian lagi disebabkan oleh proses penuaan. Banyak wanita yang mengalami gejala dan keluhan akibat perubahan tersebut di atas. Gejala dan keluhan tersebut biasanya berangsur-angsur menghilang. Walaupun tidak menyebabkan kematian, namun menimbulkan rasa tidak nyaman dan kadang-kadang menyebabkan gangguan dalam pekerjaan sehari-hari. ⁽²⁾ Perasaan tidak nyaman antara lain ditandai dengan keluhan-keluhan sebagai berikut: *hot flashes*, kulit kering, kulit tipis dan mudah luka, kulit berkerut, mulut kering (*xerostomia*), gigi goyang, *vaginal dryness*, mata kering, dll. ⁽³⁾ Keadaan ini harus ditanggulangi dalam program kesehatan wanita.

TINJAUAN PUSTAKA

Kulit

Kulit merupakan organ terbesar yang menutupi seluruh permukaan tubuh. Beratnya mencapai 16 % dari berat badan.

Kulit terdiri atas dua lapisan utama, epidermis dan dermis. Di bawah dermis terdapat lapisan jaringan ikat longgar, hipodermis, yang pada beberapa tempat, terutama terdiri atas jaringan lemak. Hipodermis melekat pada fascia atau periosteum tulang di bawahnya. ⁽⁶⁾

Epidermis dibagi menjadi 5 lapisan. Stratum korneum adalah lapisan terluar yang mengandung sel-sel yang tidak berinti. Lapisan ini memberikan kekuatan mekanik dan permeabilitas yang rendah terhadap kulit. ^(6, 19)

Di bawah epidermis terdapat dermis atau korium, lapisan kulit yang terdiri atas jaringan ikat yang merupakan bagian terbesar tebal kulit. Dermis dibagi menjadi dua lapisan. Stratum papilar superfisial terdiri atas fibroblas dan jenis sel jaringan ikat lain, tersebar luas di antara berkas-berkas serat kolagen halus, terutama kolagen tipe III. Lapis ini juga mengandung anyaman longgar serat-serat elastin dan banyak kapiler. Stratum retikular yang lebih dalam terdiri atas berkas-berkas serat yang lebih kasar berhimpitan, terutama kolagen tipe I. ⁽⁶⁾

Kolagen

Jaringan penyambung tersusun atas sel-sel dan matriks ekstraseluler, yang terdiri atas substansi dasar dan serat-serat. Substansi dasar merupakan materi tempat terpendamnya sel-sel dan jaringan ikat. ^(7, 12)

Subtansi dasar jaringan penyambung terutama terdiri atas glikosaminoglikans dan glikoprotein. Glikosaminoglikans utama dari jaringan penyambung adalah kondroitin sulfat, keratan sulfat, heparan sulfat, dan asam hialuronat.⁽⁶⁾

Ovarium

Ovarium ada sepasang, terletak dalam pelvis, berbentuk seperti buah kenari, panjang 3 cm, lebar 1,5-2 cm, dan tebal 1 cm. Ovarium dilapisi oleh epitel kuboid rendah yang disebut epitel germinal. Di bawah epitel germinal, terdapat lapisan jaringan penyambung avaskular yang disebut tunika albuginea. Ovarium dibagi menjadi daerah korteks dan medula.⁽⁷⁾

Korteks ovarium mengandung folikel-folikel dalam berbagai stadium perkembangan, dikelilingi oleh unsur-unsur jaringan ikat stroma dan sel-sel hilus, yaitu sekelompok sel penghasil steroid.^(7,8)

Pada saat lahir, hanya terdapat jenis folikel primordial. Kemudian beberapa folikel mengalami perkembangan lanjutan untuk membentuk folikel primer, dengan oositnya lebih besar. Saat pubertas, beberapa folikel primer ini memasuki fase pertumbuhan cepat, pada setiap siklus menstruasi. Folikel primer kemudian berkembang menjadi folikel sekunder selanjutnya menjadi folikel tersier, dan akhirnya menjadi folikel matang atau folikel de Graaf. Pada saat ovulasi, dinding ovarium ruptur dan ovum dikeluarkan.⁽⁶⁾

Ovarium wanita muda/*menarche* diperkirakan mengandung 400.000 folikel primordial dan primer. Selama kehidupan reproduktifnya, kurang dari 450 folikel ini akan

melengkapi maturasinya dan melepaskan ovum. Folikel yang lain akan mengalami atresia sesuai dengan tahapan stadiumnya. Sebagai hasil dari degenerasi folikel kontinu ini, jumlah folikel ovarium menurun drastis dan habis pada saat menopause.^(6,7) Selama klimakterium terjadi perubahan-perubahan endokrin yang mendasar, yaitu penurunan sekresi estrogen ovarium yang disebabkan oleh habisnya oosit dan folikel-folikel akibat atresia.⁽¹¹⁾

Estrogen

Estrogen adalah suatu steroid yang disintesis dari kolesterol seperti halnya dengan steroid lainnya. Di dalam plasma, hormon ini sebagian akan terikat pada protein plasma dan hanya 2% yang berada dalam bentuk bebas.⁽²⁰⁾ Estrogen disekresi dari sel teka interna dan sel-sel granulosa, korpus luteum atau plasenta. Estrogen juga diproduksi melalui proses aromatisasi androgen dalam jaringan lemak, hati, dan kulit.⁽⁹⁾

Pada wanita pascamenopause seluruh hormon kelamin steroid menurun kadarnya. Hormon estrogen terutama dihasilkan melalui konversi perifer hormon estrogen, khususnya androstenedion. Jaringan lemak tampak berperan penting dalam proses konversi hormon ini menjadi estron, sehingga obesitas ikut serta menentukan kadar estron dalam darah. Ovarium wanita pascamenopause menghasilkan sekitar 50% testosteron dan sepertiga androstenedion plasma. Bagian terbesar hormon androgen dihasilkan oleh korteks kelenjar adrenal, yang pada akhirnya menjadi sumber utama hormon estrogen pada wanita pascamenopause.^(13,22)

Fisiologi Estrogen

Aktivitas biologi estrogen adalah untuk mempengaruhi pertumbuhan, diferensiasi dan fungsi organ reproduksi, termasuk kelenjar mamma, uterus, dan ovarium. Hormon ini juga ikut bertanggung jawab dalam pemeliharaan struktur normal kulit.⁽⁸⁾ Estrogen menstimulasi pertumbuhan endometrium, myometrium, epitel vagina, dan uretra. Estrogen juga meningkatkan aliran darah pada traktus genitalia, meningkatkan sekresi kelenjar serviks, dan menginduksi ekspresi reseptor progesteron dan hormon LH. Reseptor estrogen sudah diidentifikasi pada beberapa jaringan nonreproduksi, dan pada wanita, estrogen diketahui berpengaruh pada metabolisme lemak, jaringan ikat kolagen, kulit, dan sistem kardiovaskuler.⁽²³⁾ Pada kulit yang menua, pemberian estrogen meningkatkan turgor dan produksi kolagen, serta mengurangi dalamnya kerutan.⁽⁹⁾

Menopause dan Penuaan Pada Kulit

Saat ini, banyak wanita hidup cukup lama untuk menjadi menopause. Rata-rata kehidupan wanita meningkat dari 50 – 81,7 tahun, berarti bahwa lebih dari sepertiga hidup akan dilalui dalam masa menopause.⁽³⁾

Menopause bukan suatu penyakit, tetapi suatu peristiwa normal dalam kehidupan manusia. Hal ini dapat menurunkan kualitas hidup, dan peningkatan risiko penyakit, misalnya osteoporosis dan penyakit jantung koroner.⁽³⁾ Selain itu perubahan yang terjadi akibat menopause antara lain adalah perubahan pada organ reproduksi, perubahan fisik seperti *hot flushes*, keringat berlebihan, penambahan berat badan,

serta hilangnya jaringan penyambung. Rendahnya kadar estrogen juga berpengaruh pada kolagen jaringan penyambung. Akibat dari defisiensi ini menyebabkan kulit menjadi kering dan keriput, produksi kelenjar air mata berkurang, dan gigi mudah goyang.⁽³⁾

Estrogen dan Reseptor Estrogen di Kulit

Masih terdapat perbedaan yang luas dalam memahami bagaimana aksi estrogen terutama pada jaringan nonreproduksi seperti kulit. Pengaruh estrogen yang signifikan pada beberapa aspek fisiologi kulit dan patofisiologinya sudah diketahui, namun penelitian terhadap aksi estrogen pada kulit masih sedikit. Estrogen memunyai fungsi penting pada beberapa komponen kulit manusia yang meliputi epidermis, dermis, folikel rambut, kelenjar sebacea, dan kelenjar apokrin. Estrogen sangat berperan dalam penuaan kulit, pigmentasi, pertumbuhan rambut, produksi sebum, dan kanker kulit. Penelitian terakhir menyatakan bahwa ada perbedaan peran antara reseptor estrogen a dan b (ER a dan ER b).⁽²¹⁾

Di kulit sudah diketahui adanya reseptor estrogen a dan b. Pada kulit normal, kadar reseptor estrogen pada wanita lebih tinggi daripada pria. Persentase tertinggi reseptor estrogen terdapat pada kulit wajah dan ekstremitas bawah.⁽⁴⁾ Pada kulit tikus juga sudah diidentifikasi adanya ER b.⁽¹⁴⁾

Fibroblas di dermis merupakan sel target estrogen. Hasil penelitian Haczynski *et al.* (2002), pada fibroblas kulit wanita pasca-menopause terdapat ER a dan ER b. Tetapi

terdapat perbedaan pada distribusi protein ER a dan ER b nya. Kadar rata-rata ekspresi ER b lebih tinggi daripada ekspresi ER a. Perbedaan ini terjadi karena kedua reseptor estrogen tersebut tidak diekspresikan ke sel atau jaringan pada kadar yang sama. Sehingga ada sel atau jaringan yang lebih responsif terhadap estrogen daripada sel atau jaringan yang lainnya.^(10, 23)

Penelitian Punnonen & Lovgren (1980) menyatakan bahwa, kadar reseptor estrogen terendah pada kulit wanita yang dikastrasi dan tidak mendapat terapi pengganti hormon dibandingkan pada kulit wanita yang normal.

Pengaruh Menopause dan Penuaan terhadap Kolagen Dermis

Kulit merupakan salah satu organ terbesar, yang sangat dipengaruhi oleh penuaan dan menopause. Pada saat menopause, perubahan-perubahan kulit akibat penuaan mulai menjadi nyata. Kulit menjadi tipis dan keriput.⁽⁸⁾

Metabolisme sel di dermis dipengaruhi oleh hipoestrogen akibat menopause yang menunjukkan perubahan-perubahan pada kandungan kolagen, glikosaminoglikan, dan kandungan air. Perubahan-perubahan pada komponen dasar ini menunjukkan perubahan yang sesuai dengan kulit yang menua.⁽¹⁶⁾ Oleh karena itu, perlu dibedakan antara perubahan kulit akibat menopause (penuaan intrinsik) dengan penuaan kulit akibat paparan sinar matahari (penuaan ekstrinsik). Karena menurut Cook & Dzubow (1997), penurunan jumlah kolagen lebih besar pada kulit yang menua karena cahaya

matahari (penuaan ekstrinsik) daripada penuaan intrinsik termasuk menopause.

Jumlah kolagen kulit pada wanita lebih sedikit dibandingkan pada pria. Oleh karena itu pengaruh penuaan lebih dahulu terjadi pada wanita dibanding pria.⁽¹⁹⁾ Penurunan kandungan kolagen kulit setelah menopause terjadi lebih cepat pada tahun-tahun awal pascamenopause daripada tahun-tahun berikutnya. Sekitar 30% kolagen kulit hilang pada 5 tahun pertama setelah menopause, dan rata-rata kehilangan 2,1% per tahun selama 20 tahun menopause.⁽¹⁰⁾ Hal ini sama dengan kehilangan massa tulang setelah menopause.

Pada beberapa penelitian, estrogen meningkatkan aktivitas fibroblas dan meningkatkan kandungan air, asam hialuronat, dan kolagen dermis. Beberapa hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian estrogen meningkatkan ketebalan kulit, meningkatnya aktivitas mitosis keratinosit, dan memelihara kelembaban kulit pada wanita pasca-menopause.⁽¹⁸⁾ Pemberian estriol dan estradiol juga meningkatkan serat kolagen secara signifikan dan peningkatan kolagen tipe III yang mencolok, serta berkurangnya kerutan secara signifikan selama perlakuan (Schmidt *et al.*, 1996). Sedangkan pada penelitian Aarneoikarinen (2000), satu tahun pemberian terapi sulih hormon (HRT) tidak mempunyai pengaruh bermakna pada ketebalan kulit, sintesis kolagen atau elastin. Walaupun, estrogen mempunyai pengaruh yang cukup penting pada macam-macam komponen kulit, namun mekanisme aksi estrogen masih belum jelas.⁽²¹⁾

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan menggunakan 32 ekor tikus yang dibagi menjadi empat kelompok. Ovariectomi (ovx) dilakukan pada dua kelompok tikus sedangkan dua kelompok lainnya sebagai kontrol. Satu kelompok tikus ovariectomi dan satu kelompok tikus kontrol dibedah pada hari ke-50 pascaovariectomi untuk diambil kulit abdomennya. Dua kelompok tikus yang lain dibedah pada hari ke-100 pascaovariectomi. Berat badan tikus ditimbang pada hari pertama dan hari terakhir sebelum pembedahan.

Kulit abdomen yang telah diambil dibuat sajian mikroskopik dengan pewarnaan *Trichrome*. Sajian diperiksa di bawah mikroskop cahaya dan

dilakukan pengukuran ketebalan dermis dan pemotretan dermis. Hasil pemotretan di-*scan* ke komputer, selanjutnya dianalisis dengan format RGB (*Red, Green, Blue*) menggunakan program *Adobe Photoshop 7.0*. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji *t* pada $\alpha = 0,05$ menggunakan program SPSS.

HASIL PENELITIAN

1. Pengukuran Ketebalan Dermis

Hasil pengukuran rerata ketebalan dermis dengan menggunakan mikrometer terhadap 32 ekor tikus percobaan dapat dilihat pada tabel 1. Kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan uji *t*.

Tabel 1
Rerata ketebalan dermis (mm)

Tikus ke-	Kontrol 50 hari	Ovx - 50 hari	Kontrol 100 hari	Ovx - 100 hari
1	25.1	37.3	45.2	28.6
2	23.0	20.4	26.8	19.8
3	25.5	17.2	15.9	17.1
4	19.4	18.2	21.8	18.0
5	26.1	30.8	31.1	13.1
6	19.7	59.6	29.0	22.4
7	19.4	18.2	32.9	37.1
8	18.2	26.2	18.6	23.6
Jumlah	176.4	227.9	221.3	179.7
Rata-rata	22.05	28.488	27.663	22.463
SD	3.766	14.445	9.29	7.528

Hasil analisis statistik dengan uji t, menunjukkan terdapat peningkatan ketebalan dermis yang tidak bermakna pada tikus ovx-50 hari dibandingkan dengan kontrol ($P > 0,05$). Nilai signifikansi = $0,251 > \alpha 0,05$. Hal ini berarti H_0 diterima. Dan pada tikus ovx-100 hari, menunjukkan terdapat penurunan ketebalan dermis yang tidak bermakna ($P > 0,05$). Nilai signifikansi = $0,239 > \alpha 0,05$. Hal ini berarti H_0 diterima.

2. Pengukuran Ketebalan Pulasan Kolagen Dermis

Preparat jaringan diwarnai dengan pewarnaan *Trichrome* untuk melihat jaringan kolagen. Kemudian ketebalan pulasan jaringan kolagen secara kuantitatif diukur menggunakan perangkat komputer dengan program *Adobe Photoshop 7.0*, dengan menghitung jumlah *pixels*/titik hijau. Hasil pengukuran ketebalan pulasan kolagen dapat dilihat pada tabel 2. Kemudian dilakukan analisis statistik dengan uji t.

Tabel 2
Nilai ketebalan pulasan kolagen dermis kulit (dalam *pixels*)

Tikus ke-	Kontrol 50 hari	Ovx - 50 hari	Kontrol 100 hari	Ovx - 100 hari
1	213.71	231.83	237.65	235.06
2	212.14	206.36	190.25	205.77
3	227.02	222.01	236.76	240.79
4	239.53	208.25	191.20	223.46
5	216.00	213.61	215.90	181.13
6	176.71	220.66	241.43	189.32
7	201.66	158.92	242.20	238.30
8	184.51	228.87	203.24	207.71
Jumlah	1671.28	1690.51	1758.63	1721.54
Rata-rata	208.91	211.31	219.83	215.19
SD	20.819	23.037	22.54	22.761

Perhitungan statistik dengan uji t terhadap ketebalan pulasan kolagen dermis, menunjukkan adanya peningkatan ketebalan kolagen dermis yang tidak bermakna pada tikus ovx-50 hari dibandingkan dengan kontrol ($p > 0,05$). Nilai signifikansi = $0,829 > \alpha 0,05$. Hal ini berarti H_0 diterima. Pada kelompok ovx-100 hari, menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna terhadap ketebalan pulasan kolagen dermis kelompok ovx-100 hari dibandingkan dengan kontrol ($p > 0,05$). Nilai signifikansi = $0,688 > \alpha 0,05$. Hal ini berarti H_0 diterima.

3. Pengukuran Berat Badan

Hasil penimbangan berat badan tikus dapat dilihat pada tabel 3. Kemudian dilakukan analisis statistik.

Tabel 3
Kenaikan Berat badan tikus (gram) pada kontrol, ovx 50 dan ovx 100 hari

Tikus ke-	Kontrol 50 hari		Ovx - 50 hari		Kontrol 100 hari		Ovx - 100 hari	
	BB Awal	BB Akhir	BB Awal	BB Akhir	BB Awal	BB Akhir	BB Awal	BB Akhir
1	170	170	170	170	220	210	200	280
2	200	200	200	220	150	180	160	200
3	200	220	220	240	200	230	190	250
4	200	200	220	240	190	240	250	330
5	160	160	190	220	160	260	210	300
6	210	210	150	160	160	210	240	300
7	180	170	210	200	200	200	190	230
8	200	200	190	200	200	210	240	260
Jumlah	1520	1530	1550	1650	1480	1740	1680	2150
Rata-rata	190.0	191.3	193.8	206.3	185.0	217.5	210.0	268.8
SD	17.728	21.671	24.458	29.731	25.071	24.928	31.168	42.237

Dari tabel 3 tampak selisih rerata berat badan awal dan akhir kontrol 50 hari hanya 1,3 gram, perhitungan statistiknya juga tidak terdapat perbedaan bermakna. Nilai signifikansi $0,685 > \alpha 0,05$. Sedangkan pada tikus yang diovariektomi terdapat rerata pertambahan berat badan yang signifikan, perhitungan statistiknya juga terdapat perbedaan yang bermakna. Nilai signifikansi $= 0,028 < \alpha 0,05$.

Pada kontrol dan ovariektomi 100 hari terjadi pertambahan berat badan yang signifikan, perhitungan statistiknya juga terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Nilai signifikansi untuk kontrol $0,034 < \alpha 0,05$. Sedangkan nilai signifikansi untuk ovx- 100 hari $0,00 < \alpha 0,05$.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada ketebalan dermis, ketebalan pulasan kolagen dermis tikus 50 hari dan 100 hari pascaovariektomi

bilateral dibandingkan dengan kontrol. Tidak adanya perbedaan pada kedua parameter kemungkinan disebabkan karena kadar estrogen yang berkurang akibat tindakan ovariektomi

segera digantikan oleh estrogen dari jaringan lemak. Selain itu, kulit merupakan tempat biosintesis estrogen ekstraseluler; karena kulit banyak mengandung enzim-enzim yang memecah hormon steroid yang mengubah testosteron menjadi E₂ (estradiol) dan androstenedione menjadi estron pada wanita pascamenopause. Pada tikus yang diovariectomi bilateral 50 hari dan 100 hari terjadi penambahan berat badan yang signifikan. Pertambahan berat badan yang signifikan ini diduga berhubungan dengan terjadinya peningkatan lemak tubuh, karena ovariectomi menginduksi *hyperphagia* dan menurunkan aktivitas tikus.

KESIMPULAN

Tidak ada perbedaan yang signifikan antara ketebalan dermis, ketebalan pulasan kolagen dermis antara tikus 50 hari dan 100 hari pascaovariectomi bilateral dibandingkan dengan kontrol, tetapi terdapat perbedaan yang signifikan pada kenaikan berat badan tikus pascaovariectomi bilateral 50 hari dan 100 hari.

SARAN

Penelitian selanjutnya akan lebih akurat bila dilengkapi dengan pengukuran kadar estrogen darah dan kadar biosintesis kolagen. Penelitian terhadap variasi waktu juga diperlukan sehingga dapat diketahui kapan ovariectomi memberi pengaruh yang signifikan terhadap kulit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aarneokarinen. Systemic estrogen have no conclusive beneficial effect on human skin connective tissue. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* 2000; 79 (4)
2. Baziad, A. & B. Affandi (editor) 1997. Panduan menopause. Hlm.: 11-12, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
3. Birkhäuser, M.H. 2002 *The menopause and aging*. Dalam International Position paper. Women's health and menopause: A comprehensive Approach. National institutes of health. Hlm.: 28-37
4. Ciocca, D.R. & Roig, M.V. Estrogen receptors in human nontarget tissues: Biological and clinical implications. *Endocrine Review* 1995; 19(1): 35-62
5. Cook, J.L. & L.M. Dzubow. Aging of the skin. *Arch. Dermatol* 1997; 133:1273-1277
6. Fawcett, D.W. 1994. *A textbook of histology*. 12 th ed. Terj: Tambayong, J. 2002.Hlm.:122-123, Penerbit EGC, Jakarta.
7. Gartner, L.P. & Hiatt, J.L. 1997. *Color textbook of histology*. Hlm.: 383-384, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
8. Greenspan, F.S. & Baxter, J.D. 1995, *Endokrinologi dasar & klinik*. Ed-4. Terj. Wijaya, C. dkk. Hlm.: 547-549, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.

9. Gruber C.J et al. Production and actions of estrogens. *The New England Journal of Medicine* 2002; 346(5): 340-352
10. Haczynski, J., R Tarkowski, K. Jarzabek, M. Slomeczynska, S. Wolczynski, D. Magoffin, J.A Jakowicki & A.J. Jakimiuk. Human cultured skin fibroblasts express estrogen receptor a and B. *International Journal of Molecular Medicine* 2002; 10: 149-153
11. Jacob T.Z. & Baziad, A. 1994. Anatomi dan fisiologi ovarium, dalam endokrinologi reproduksi. Hlm.:1-3, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
12. Leeson, T.S., C.R. Leeson & A.A. Paparo. 1990. *Buku ajar Histologi*. 5 th ed. Hlm.: 126-127, Igaku-Shoin/ Saunders International edition.
13. Osuga Y et al. Effects of gonadotropin-releasing hormone analog treatment on skin conditions. *Gynecol Endocrinol* 2002; 16(1): 57-61
14. Pelletier G. Localization of androgen and estrogen receptors in rat and primate tissues. *Histol Histopathol* 2000; 15(4):1261-70
15. Punnonen R, Lovgren T, Kouvonen I. Demonstration of estrogen receptors in the skin. *J Endocrinol Invest* 1980; 3(3):217-21
16. Raine-Fenning NJ, Brincat MP, Muscat-Baron Y. Skin aging and menopause : implications for treatment. *Am J Clin Dermatol* 2003;4(6):371-8.
17. Schmidt, JB, M Binder, G Demshik, C Bieglmayer, A Reiner. Treatment of skin aging with topical estrogens. *International Journal of Dermatology* 1996; 35(9):669-674.
18. Shah, MG & Maibach HI. Estrogen and skin. An overview. *Am J Clin Dermatol* 2001; 2(3): 143-50
19. Subramaniam, R. et al. Menopause and the skin. *Journal of Pediatrics and Gynaecology* 2002; 41-44
20. Thamrin, E. 2001, Endokrinologi, Bahan kuliah fakultas kedokteran gigi. Universitas Indonesia. 21. Thornton MJ. The biological actions of estrogens on skin. *Exp Dermatol* 2002; 11: 487-502. 22. Vihtamaki, T. 2003. *Towards self-adjusted postmenopausal hormonal replacement therapy*. Hlm.: 10-18, Academic Dissertation. Acta Universitatis Tamperensis. Tampere.
23. Wyeth-Ayerst Laboratories. 2001. *The new science estrogen receptor*. U.S. Pharmacist Continuing Education.: 11 hlm.