

PENGARUH PEMBERIAN PROBIOTIK TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS DIET TINGGI LEMAK

Azizah Dewi Novitaningsih¹, Eka Noneng Nawangsih^{2*}, Diana Ifariani³, Teja Koswara⁴

Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi¹, Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi², Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi³, Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi⁴

*Corresponding Author : eka.noneng@lecture.unjani.ac.id

ABSTRAK

Pemberian makanan tinggi lemak pada tikus dapat secara spontan mendorong terjadinya NASH, fibrosis, dan NAFLD yang menginduksi perubahan mikrobiota usus dan metabolit pada tikus. Penggunaan bahan pangan fungsional suplemen probiotik merupakan alternatif terapi komplementer, dengan kandungan senyawa bakteri asam laktat (BAL) yang mampu menurunkan kadar kolesterol. Studi menggunakan desain penelitian *Posttest Only Group Design* dengan 15 sampel Bahan Biologi Tersimpan (BBT) hepar tikus galur wistar jantan dari 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif dengan pakan standar, kelompok kontrol positif dengan diet tinggi lemak, kelompok simvastatin dengan diet tinggi lemak, kelompok probiotik dengan diet tinggi lemak, dan kelompok kombinasi simvastatin dan probiotik dengan diet tinggi lemak. Dengan melakukan pengamatan secara histopatologi untuk melihat dan membandingkan efek probiotik dan simvastatin terhadap struktur seluler dan jaringan hepar. Pada kelompok kontrol negatif secara keseluruhan ditemukan hepatosit normal dengan sedikit ditemukan degenerasi balon dan tidak terdapat inflamasi lobular. Kelompok kontrol positif secara keseluruhan ditemukan steatosis dengan total kurang dari 5% dengan sedikit degenerasi balon dan beberapa fokus inflamasi lobular. Kelompok simvastatin seluruh sampel mengalami sedikit steatosis dengan variasi jumlah fokus inflamasi lobular dan degenerasi balon. Kelompok probiotik menunjukkan hasil yang lebih bervariasi dan secara umum lebih baik dibandingkan kontrol positif. Kelompok kombinasi simvastatin dan probiotik menunjukkan hasil terbaik dengan tingkat steatosis menurun secara signifikan dengan sedikit degenerasi balon dan satu sampel yang terdapat inflamasi lobular dengan *score* 2 menurut NASH CRN. Kesimpulan dari penelitian diperoleh, hasil pemberian secara kombinasi suplementasi probiotik dan simvastatin mampu menurunkan jumlah perlemakan, inflamasi lobular, dan degenerasi balon pada tikus percobaan.

Kata kunci : hepar, histopatologi, perlemakan, probiotik, simvastatin

ABSTRACT

Feeding mice a high-fat diet can spontaneously promote the occurrence of NASH, fibrosis, and NAFLD which induce changes in the gut microbiota and metabolites in mice. The study used a Posttest Only Group Design research design with 15 samples of Stored Biological Material (BBT) of the liver of male wistar strain rats from 5 groups. The negative control group with a standard diet, the positive control group with a high-fat diet, the simvastatin group with a high-fat diet, the probiotic group with a high-fat diet, and the symvastatin and probiotic combination group with a high-fat diet. By making histopathological observations to see and compare the effects of probiotics and simvastatin on the cellular structure and liver tissue. In the overall negative control group, normal hepatocytes were found with a small amount of balloon degeneration and no lobular inflammation. The combination group of simvastatin and probiotics showed the best results with a significantly reduced rate of steatosis with little balloon degeneration and one sample with lobular inflammation with a score of 2 according to NASH CRN. The conclusion of the study was obtained that the results of giving a combination of probiotic supplementation and simvastatin were able to reduce the amount of fat, lobular inflammation, and balloon degeneration in experimental rats.

Keywords : hepatic, histopathology, fat, probiotics, simvastatin

PENDAHULUAN

Pemberian makanan tinggi lemak pada tikus dapat secara spontan mendorong terjadinya *Non-Alcoholic Steatohepatitis* (NASH), fibrosis, dan *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) yang menginduksi perubahan mikrobiota usus dan metabolit pada tikus (X. Zhang et al., 2021; Zhu et al., 2021). NASH merupakan keadaan kerusakan hati yang lebih parah dari steatosis dan merupakan tahap terpenting dalam perkembangan steatosis hati sederhana menjadi fibrosis dan sirosis pada penyakit hati berlemak nonalkohol (NAFLD) (Rodrigues et al., 2019; Vergani L, 2019; X. Zhang et al., 2021). NASH ditandai dengan nekroinflamasi berdasarkan steatosis hati dan degenerasi balon hepatoseluler (Kleiner et al., 2005; Rodrigues et al., 2019; Younossi et al., 2018; Zhu et al., 2021). Steatosis terjadi karena adanya peningkatan akumulasi lemak berlebih, umunya lebih dari 5% dari hepatosit (Nassir et al., 2015; Vergani L, 2019). Akumulasi lipid terutama dalam bentuk trigliserida total (TG) pada hati. Akumulasi trigliserol di hati dapat bersifat hepatoprotektif dalam waktu singkat, namun penyimpanan lemak dalam jumlah tinggi secara berkepanjangan dapat menyebabkan disfungsi metabolik, peradangan, dan bentuk lanjut menjadi penyakit hati berlemak (Nassir et al., 2015).

Penggunaan bahan pangan fungsional suplementasi probiotik merupakan alternatif terapi komplementer yang dapat dilakukan untuk mengatasi perlemakan hati (Vergani L, 2019). Probiotik mengandung senyawa bakteri asam laktat (BAL) yang mengandung asam amino rantai pendek sehingga mampu menurunkan tekanan darah, meningkatkan kekebalan tubuh, dan menghambat kerja enzim pembentuk kolesterol (Beltrán-Barrientos et al., 2016; Mitra et al., 2020; Ritonga et al., 2024). Beberapa teori mengemukakan probiotik dapat menurunkan kolesterol melalui empat mekanisme. 1) kemampuan probiotik dalam mengubah kolesterol menjadi koprostanol, 2) proses dekonjugasi oleh enzim probiotik yang menyebabkan pengendapan dan asimilasi kolesterol, 3) proses regulasi protein yang terikat dengan probiotik untuk metabolisme kolesterol, dan 4) produksi *Short-Chain Fatty Acid* (SCFA) oleh probiotik yang dapat meningkatkan ekspresi apolipoprotein yang bertanggung jawab untuk membalikkan transportasi kolesterol (Kriaa et al., 2019). Suplementasi probiotik *soyghurt* beku kering yang didalamnya terdapat bakteri *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 dan *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521, merupakan produk olahan fermentasi yang diperoleh dengan bahan baku susu kedelai yang berpotensi sebagai prebiotik alami. Susu kedelai mengandung *soybean oligosaccharides* (SOS) sebagai prebiotik yang bermanfaat dalam menstimulasi aktivitas pertumbuhan bakteri sehingga dapat diperoleh jumlah yang maksimal (María Remes-Troche et al., 2020).

Statin digunakan untuk pengobatan gangguan lipid; khususnya dalam mengurangi kadar kolesterol lipoprotein densitas rendah (LDL-C) yang tinggi. Beberapa literatur menyebutkan bahwa statin, seperti simvastatin (SIM), juga dapat memberikan efek anti-inflamasi. Seperti penghambatan pembentukan sitokin, ekspresi molekul adhesi, dan pengurangan produksi oksida nitrat yang dapat melindungi terhadap peradangan patologis dan kerusakan jaringan (Rodrigues et al., 2019).

METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan eksperimental laboratorik dengan desain penelitian *Posttest Only Group Design* yaitu penelitian menggunakan pengamatan terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Sasta Handani et al., 2018). Bahan yang digunakan terdiri dari bahan biologik tersimpan (BBT) hepar tikus putih galur wistar yang telah diberi diet tinggi lemak selama 42 dan disimpan di dalam larutan formalin selama satu tahun. BBT ini terdiri dari 5 kelompok perlakuan, kelompok 1 merupakan kontrol negatif yang diberi makanan berupa pakan standar, kelompok 2 kontrol positif yang diberi diet tinggi lemak, kelompok 3

diberikan simvastatin dan diet tinggi lemak, kelompok 4 diberi probiotik dan diet tinggi lemak, serta kelompok 5 diberi kombinasi simvastatin dan probiotik dengan diet tinggi lemak. Dosis simvastatin sebesar 2,16 mg dan *soyghurt* beku-kering mengandung bakteri probiotik minimal 10^7 CFU/mL selama 28 hari.

BBT akan melalui prosedur pembuatan preparat yang terdiri dari fiksasi menggunakan *Neutral Buffered Formalin* (NFB) 10% (Kamaliani et al., 2019; Rahmawanti et al., 2021). Kemudian pemotongan dengan ukuran 1 x 1 x 1 cm dan dimasukkan ke dalam *cassette* jaringan. Potongan jaringan didehidrasikan secara berturut-turut dengan alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, dan alkohol absolut II selama dua jam pada masing-masing konsentrasi (Aryani Putri et al., n.d.; Kamaliani et al., 2019). Kemudian *clearing* atau proses mengeluarkan alkohol dari dalam jaringan dengan cara merendam jaringan dalam senyawa *xylene*. Selama *clearing*, jaringan harus melalui proses *embedding* atau *impregnation* untuk mengeluarkan *clearing agent* dari dalam jaringan. Kemudian proses infiltrasi *paraffin* sehingga jaringan yang awalnya lunak menjadi keras dan mudah dipotong. Kemudian *blocking* sehingga jaringan tercetak di dalam blok-blok *paraffin* dan disimpan disuhu ruang hingga keras sempurna. Setelah itu akan melalui proses pemotongan (*cutting*) menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-5 mikron. Hasil pemotongan diapungkan dalam air hangat bersuhu 60°C untuk melelehkan parafin dan menghindari terbentuknya lipatan. Kemudian sediaan diangkat dan diletakkan pada *object glass* untuk dilakukan pewarnaan *Harris Hematoxylin-Eosin* (H&E) kemudian ditutup dengan *cover glass* dan direkatkan dengan entellan.

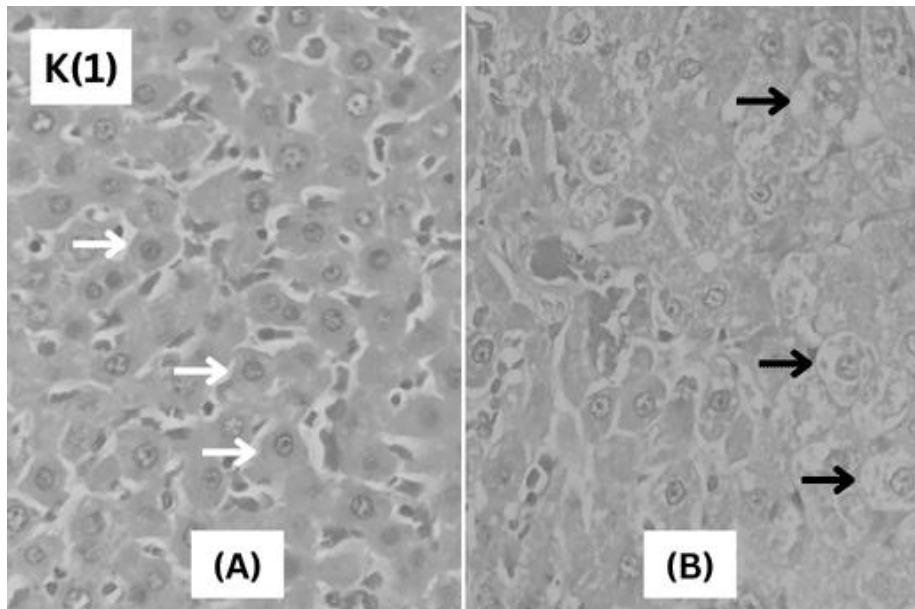
Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif untuk mengetahui gambaran NASH pada seluruh kelompok dalam bentuk preparat histopatologi. Preparat dilakukan pengamatan dibawah mikroskop cahaya menggunakan pembesaran 400x. Kemudian dilakukan penilaian berdasarkan *Non-alchohole Steatohepatitis Achivity Score* (NAS) Penilaian berdasarkan Fitur Histologi NAFLD dan NASH dalam Sistem *Non-Alcoholic Steatohepatitis Clinical Reasearch Network* (NASH CRN) (Kleiner et al., 2005). Penelitian ini mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani. Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Departemen Mikrobiologi dan Laboratorium Departemen Patologi Anatomi.

HASIL

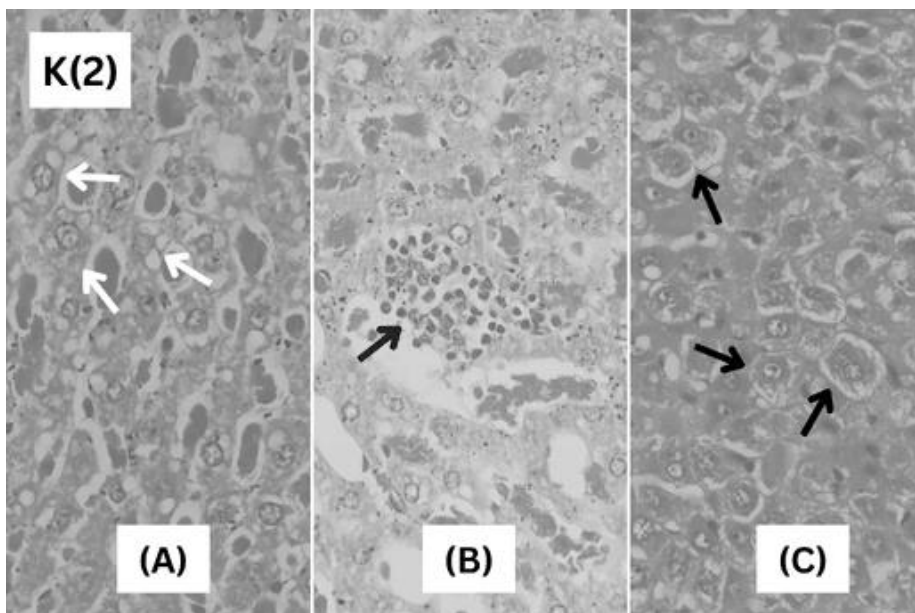
Proses pengamatan preparat dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x setelah pewarnaan H&E. Hasil menunjukkan perbedaan karakteristik hepatosit pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif yang diberi pakan standar, sampel 1 menunjukkan hepatosit normal tanpa adanya degenerasi balon yang jelas, sementara sampel 2 memperlihatkan hepatosit normal tanpa tanda-tanda degenerasi balon. Sebaliknya, pada sampel 3 ditemukan sedikit degenerasi balon yang terlihat jelas, meskipun secara umum hepatosit masih tampak normal. Hasil pengamatan kelompok kontrol negatif dapat dilihat pada gambar 1. Di sisi lain, kelompok kontrol positif yang diberi diet tinggi lemak menunjukkan adanya gambaran steatosis yang jelas dengan total kurang dari 5%, serta ditemukan beberapa fokus inflamasi lobular pada setiap sampel. Sampel 1 memiliki 1 fokus inflamasi lobular, sampel 2 memiliki 2 fokus inflamasi lobular, dan sampel 3 memiliki 1 fokus inflamasi lobular, dengan keseluruhan sampel dalam kelompok ini menunjukkan degenerasi balon yang terlihat jelas. Hasil pengamatan kelompok kontrol positif dapat dilihat pada gambar 2.

Pada kelompok simvastatin dengan diet tinggi lemak, seluruh sampel mengalami sedikit steatosis dengan variasi dalam jumlah fokus inflamasi lobular dan degenerasi balon. Sampel 1 menunjukkan adanya 1 fokus inflamasi lobular dan banyak degenerasi balon, sedangkan sampel 2 tidak ditemukan inflamasi maupun degenerasi balon. Sementara itu, sampel 3 memiliki 4 fokus inflamasi lobular dengan degenerasi balon yang tidak terlalu jelas. Hasil

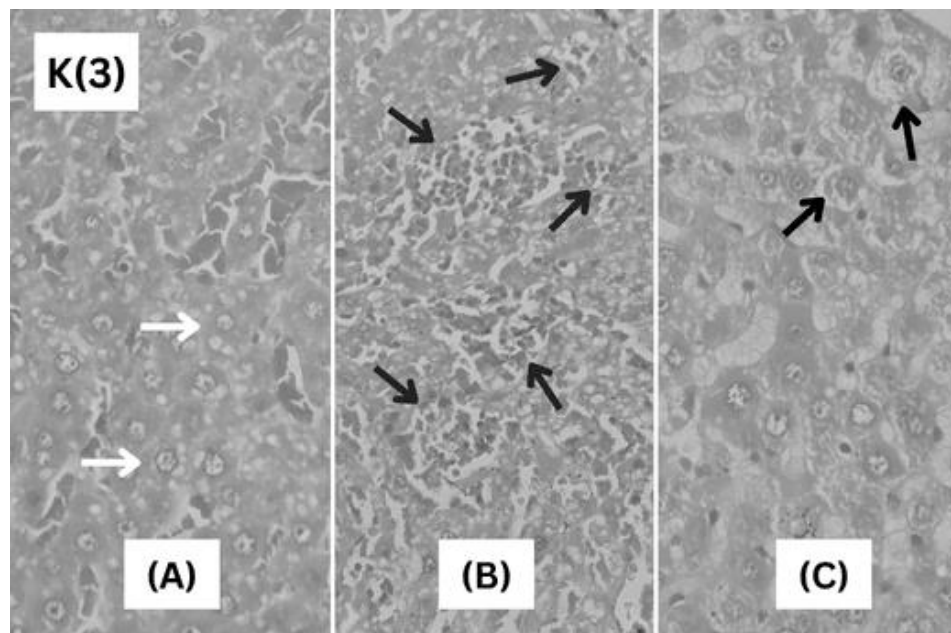
pengamatan kelompok simvastatin dapat dilihat pada gambar 3. Berbeda dengan kelompok simvastatin, kelompok probiotik dengan diet tinggi lemak menunjukkan hasil yang lebih bervariasi tetapi secara umum lebih baik dibandingkan kontrol positif. Mayoritas hepatosit pada kelompok ini tampak normal, dengan sampel 1 menunjukkan 1 fokus inflamasi lobular serta degenerasi balon yang terlihat jelas, sampel 2 memiliki 4 fokus inflamasi lobular dengan degenerasi balon yang juga terlihat jelas, sedangkan sampel 3 tidak ditemukan fokus inflamasi maupun degenerasi balon. Hasil pengamatan kelompok probiotik dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 1. Histologi Hepar Tikus Kelompok Kontrol Negatif
Gambar A = Hepatosit Normal, Gambar B = Degenerasi Balon

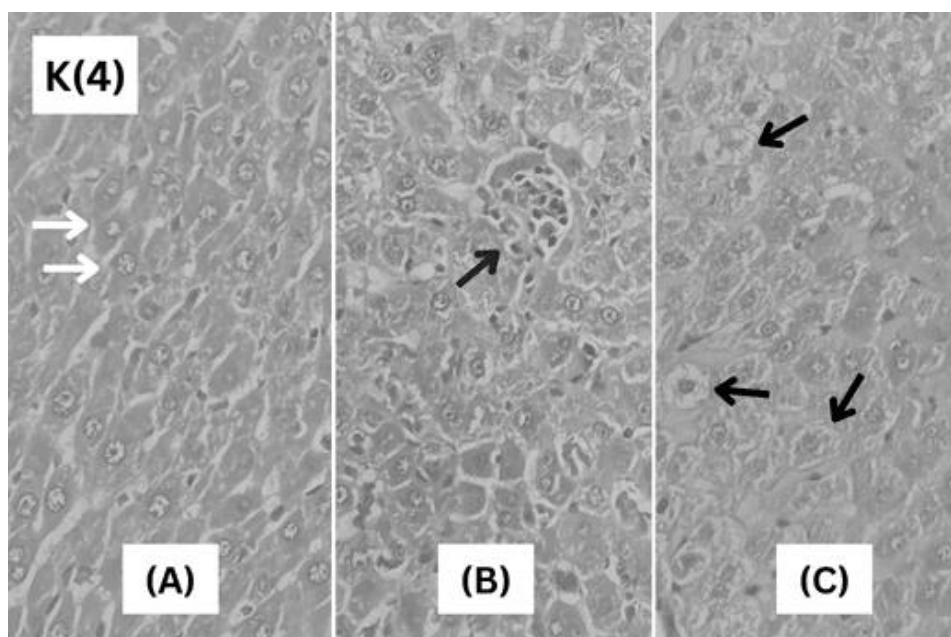


Gambar 2. Histologi Hepar Tikus Kelompok Kontrol Positif
Gambar A = Steatosis, Gambar B = Inflamasi Lobular, Gambar C = Degenerasi Balon



Gambar 3. Histologi Hepar Tikus Kelompok Simvastatin

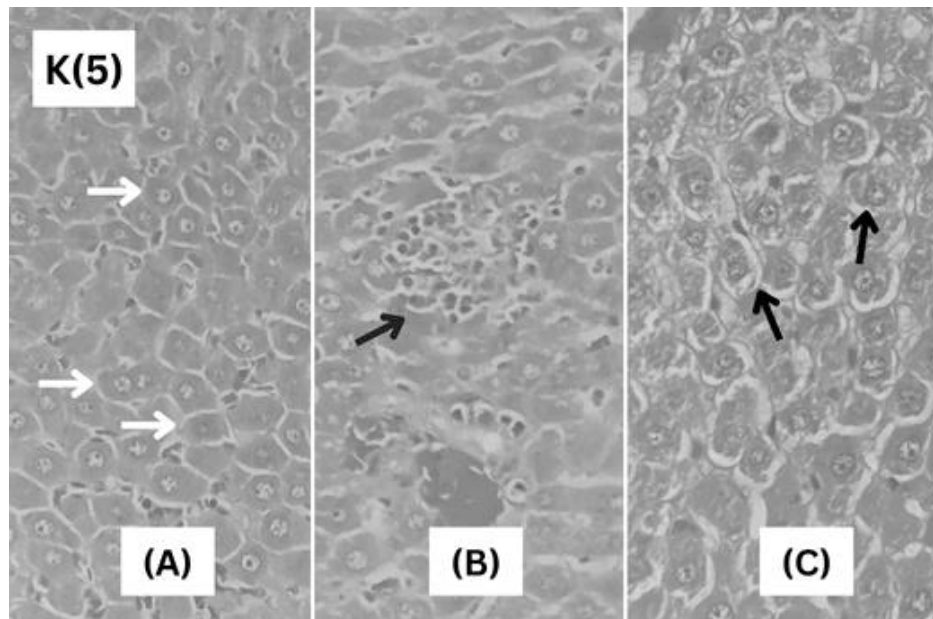
Gambar A = Steatosis, Gambar B = Inflamasi Lobular, Gambar C = Degenerasi Balon



Gambar 4. Histologi Hepar Tikus Kelompok Probiotik

Gambar A = Hepatosit Normal, Gambar B = Inflamasi Lobular, Gambar C = Degenerasi Balon

Kelompok kombinasi simvastatin dan probiotik dengan diet tinggi lemak menunjukkan hasil terbaik dengan tingkat steatosis menurun secara signifikan hingga hampir tidak bermakna. Hasil pengamatan kelompok kombinasi dapat dilihat pada gambar 5. Sampel 1 dan 2 dalam kelompok ini tidak memiliki fokus inflamasi lobular serta hanya menunjukkan sedikit degenerasi balon. Pada sampel 3, ditemukan 2 fokus inflamasi lobular dengan degenerasi balon yang terlihat jelas. Hasil nilai pengamatan dapat dilihat pada tabel dibawah ini.



Gambar 5. Histologi Hepar Tikus Kelompok Kombinasi Simvastatin Dan Probiotik
Gambar A = Hepatosit Normal, Gambar B = Inflamasi Lobular, Gambar C = Degenerasi Balon

Tabel 1. Hasil Pengamatan Hepar Tikus Dari 5 Kelompok

Nomor sampel	Steatosis score (0-3)	Inflamasi score (0-3)	Degenerasi sel balon (0-2)
K1-1	0	0	1
K1-2	0	0	0
K1-3	0	0	1
K2-1	0	1	1
K2-2	0	2	2
K2-3	0	1	2
K3-1	0	1	2
K3-2	0	0	0
K3-3	0	2	1
K4-1	0	1	2
K4-2	0	2	2
K4-3	0	0	1
K5-1	0	0	1
K5-2	0	0	1
K5-3	0	2	2

Keterangan: K1: kelompok kontrol negatif; K2: kelompok kontrol positif; K3: kelompok suplementasi simvastatin; K4: kelompok suplementasi probiotik; K5: kelompok kombinasi simvastatin dan probiotik

PEMBAHASAN

Dari data yang diperoleh menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan, dengan hasil paling baik ditemukan pada kelompok pemberian suplementasi kombinasi antara simvastatin dan probiotik. Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi suplementasi simvastatin dan probiotik memberikan efek protektif yang lebih baik terhadap perkembangan penyakit hati berlemak non-alkohol (NAFLD), terutama dalam mencegah progresi menjadi steatohepatitis non-alkoholik (NASH). Efek ini berkaitan dengan peran statin yang memberikan perlindungan, memulihkan oksidasi asam lemak mitokondria dan peroksisom. Serta sifat antitumor dengan menghambat sitokin proinflamasi dan faktor proliferasi vaskuler (Ahsan et al., 2020).

Sedangkan probiotik dapat memodulasi gangguan mikrobiota usus dan meningkatkan metabolisme asam empedu, serta kemampuan bakteri probiotik dalam memetabolisme kolesterol dengan menurunkan lemak total (TC) baik dalam tinja maupun serum darah

(Bourgin et al., 2021; Susanti et al., 2023). Pada tikus dengan peningkatan kadar lemak, terjadi perubahan mikrobiota usus yang mengarah pada *dysbiosis*, dengan penurunan jumlah *Bifidobacterium* dan *Bacteriodes* (Meroni et al., 2019). Sehingga saat tikus diberikan suplementasi probiotik dapat meningkatkan jumlah *Bifidobacterium*, sementara kombinasi dengan statin dapat membalikkan kelimpahan mikrobiota yang terganggu, dengan peningkatan asam taurokolat serum (TCA) dan penurunan asam 3-indolepropionat (IPA), yang berkontribusi terhadap perbaikan kondisi hati (Meroni et al., 2019; S. Zhang et al., 2024).

KESIMPULAN

Pemberian makanan tinggi lemak pada tikus sangat berpengaruh pada tingkat steatosis, inflamasi lobular, dan degenerasi balon. Pemberian suplementasi probiotik dan simvastatin secara terpisah kurang efektif dalam mencegah kerusakan hepar, yang ditandai dengan terdapatnya steatosis, inflamasi lobular, dan degenerasi balon yang cukup tinggi. Sedangkan, pemberian secara bersamaan suplementasi efektif dalam mencegah kerusakan hati, yang ditandai dengan menurunnya tingkat steatosis, inflamasi lobular, dan degenerasi balon. Namun, efek jangka panjang dari pemberian suplementasi probiotik dan simvastatin secara bersamaan belum diketahui, untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek yang ditimbulkannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya ucapkan terima kasih kepada Lembaga Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Jenderal Achmad Yani (LPPM Unjani) yang telah memberikan dukungan dana untuk pelaksanaan penelitian ini. Kami ucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran khususnya staf dan pengajar Departemen Mikrobiologi dan Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Unjani yang telah membimbing dan menyediakan sarana prasarana dan bantuan teknis selama pelaksanaan penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsan, F., Oliveri, F., Goud, H. K., Mehkari, Z., Mohammed, L., Javed, M., Althwanay, A., & Rutkofsky, I. H. (2020). *Pleiotropic Effects of Statins in the Light of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Non-Alcoholic Steatohepatitis*. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.10446>
- Aryani Putri, N., Khristian, E., Durachim, A., Kemenkes Semarang, P., & Jendral Achmad Yani, Stik. (n.d.). *A Review of Hematoxylin-Eosin and Periodic Acid Schiff staining to assess alloxan-induced liver injury in mice*. <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt>
- Beltrán-Barrientos, L. M., Hernández-Mendoza, A., Torres-Llanez, M. J., González-Córdova, A. F., & Vallejo-Córdova, B. (2016). *Invited review: Fermented milk as antihypertensive functional food*. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4099–4110. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10054>
- Bourgin, M., Kriaa, A., Mkaouar, H., Mariaule, V., Jablaoui, A., Maguin, E., & Rhimi, M. (2021). *Bile salt hydrolases: At the crossroads of microbiota and human health*. In *Microorganisms* (Vol. 9, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061122>
- Kamaliani, B. R., Setiasih, N. L. E., & Winaya, I. B. O. (2019). *Histopathological Kidney Overview Of Experimental Diabetes Mellitus Wistar Rats Given Ethanol Extract Of*

- Moringa Leaf. *Buletin Veteriner Udayana*, 71. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2019.v11.i01.p12>
- Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Van Natta, M., Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., Ferrell, L. D., Liu, Y. C., Torbenson, M. S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., McCullough, A. J., & Sanyal, A. J. (2005). Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 41(6), 1313–1321. <https://doi.org/10.1002/hep.20701>
- Kriaa, A., Bourgin, M., Mkaouar, H., Jablaoui, A., Akermi, N., Soussou, S., Maguin, E., & Rhimi, M. (2019). Microbial reduction of cholesterol to coprostanol: An old concept and new insights. In *Catalysts* (Vol. 9, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/catal9020167>
- María Remes-Troche, J., Coss-Adame, E., Ángel Valdovinos-Díaz, M., Gómez-Escudero, O., Eugenia Icaza-Chávez, M., Antonio Chávez-Barrera, J., Zárate-Mondragón, F., Antonio Velarde-Ruiz Velasco, J., Rafael Aceves-Tavares, G., & Antonio Lira-Pedrin, M. (2020). Lactobacillus acidophilus LB: A useful pharmabiotic for the treatment of digestive disorders. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 13, 1756284820971201.
- Meroni, M., Longo, M., & Dongiovanni, P. (2019). The role of probiotics in nonalcoholic fatty liver disease: A new insight into therapeutic strategies. *Nutrients*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/nu11112642>
- Mitra, S., De, A., & Chowdhury, A. (2020). Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Translational Gastroenterology and Hepatology*, 5.
- Nassir, F., Rector, R. S., Hammoud, G. M., & Ibdah, J. A. (2015). Pathogenesis and prevention of hepatic steatosis. *Gastroenterology & Hepatology*, 11(3), 167.
- Nawangsih, E. N., Tirani, B. R. S., & Halimah, L. S. (2022). Viabilitas Soyghurt Lactobacillus Acidophilus Dan Bifidobacterium Bifidum Setelah Dilakukan Beku Kering. *Journal of Innovation Research and Knowledge*, 2(5), 2415–2422.
- Rahmawanti, A., Setyowati, D. N., & Mukhlis, A. (2021). Histopathological of Brain, Eye, Liver, Spleen Organs of Grouper Suspected VNN in Penyambuan Village, North Lombok. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 140–148. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2439>
- Ritonga, L., Natalia Saragih, R., Novriani, E., Fachrial, E., Studi Farmasi Klinis Fakultas Kedokteran, P., & Gigi Dan Ilmu Kesehatan, K. (2024). Aktivitas Lactobacillus Casei Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Secara In Vitro Lactobacillus Casei Activity As Cholesterol Reduction In Vitro Ria Natalia Saragih, Erida Novriani, Edy Fachrial Under the license CC BY-SA 4.0. *Journal Health & Science: Gorontalo Journal Health and Science Community*. <https://ejurnal.ung.ac.id/index.php/gojhes/index>
- Rodrigues, G., Moreira, A. J., Bona, S., Schemitt, E., Marroni, C. A., Di Naso, F. C., Dias, A. S., Pires, T. R., Picada, J. N., & Marroni, N. P. (2019). Simvastatin reduces hepatic oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in nonalcoholic steatohepatitis experimental model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3201873>
- Sasta Handani, K., Sugih Utami, W., Hermansyah, B., Normasari, R., Kalimantan No, J., & Tegalboto, K. (2018). Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.) pada Uji Toksisitas Akut Histopathological Changes in the Wistar Rats Liver Treated with Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.) Rhizome Ethanol Extract during Acute Toxicity Test. In *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* (Vol. 4, Issue 1).
- Susanti, I., Haryo Bimo Setiarto, R., Kahfi, J., Giarni, R., Muhamaludin, Ramadhaningtyas, D. P., & Randy, A. (2023). The Mechanism of Probiotics in Preventing the Risk of Hypercholesterolemia. In *Reviews in Agricultural Science* (Vol. 11, pp. 156–170). Gifu University - United Graduate School of Agricultural Science. https://doi.org/10.7831/ras.11.0_156

- Vergani L. (2019). Fatty Acids and Effects on In Vitro and In Vivo Models of Liver Steatosis. *Curr Med Chem*, 3439–3456.
- Younossi, Z. M., Loomba, R., Anstee, Q. M., Rinella, M. E., Bugianesi, E., Marchesini, G., Neuschwander-Tetri, B. A., Serfaty, L., Negro, F., Caldwell, S. H., Ratziu, V., Corey, K. E., Friedman, S. L., Abdelmalek, M. F., Harrison, S. A., Sanyal, A. J., Lavine, J. E., Mathurin, P., Charlton, M. R., ... Lindor, K. (2018). *Diagnostic modalities for nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and associated fibrosis*. In *Hepatology* (Vol. 68, Issue 1, pp. 349–360). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/hep.29721>
- Zhang, S., Ren, X., Zhang, B., Lan, T., & Liu, B. (2024). *A Systematic Review of Statins for the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis: Safety, Efficacy, and Mechanism of Action*. In *Molecules* (Vol. 29, Issue 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/molecules29081859>
- Zhang, X., Coker, O. O., Chu, E. S. H., Fu, K., Lau, H. C. H., Wang, Y. X., Chan, A. W. H., Wei, H., Yang, X., Sung, J. J. Y., & Yu, J. (2021). *Dietary cholesterol drives fatty liver-associated liver cancer by modulating gut microbiota and metabolites*. *Gut*, 70(4), 761–774. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-319664>
- Zhu, B., Chan, S. L., Li, J., Li, K., Wu, H., Cui, K., & Chen, H. (2021). *Non-alcoholic steatohepatitis pathogenesis, diagnosis, and treatment*. In *Frontiers in Cardiovascular Medicine* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.742382>