

ASTAXANTHIN MENGHAMBAT PERLEMAKAN HATI DAN PENINGKATAN KADAR SERUM GAMMA-GLUTAMYLTRANSFERASE PADA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIBERI MINYAK JELANTAH

Astrid A. Pangalela¹, I Wayan Weta², Iin Indrayani Maker³

¹Program Studi Magister Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bali, Indonesia.

Email: atid22@yahoo.com

²Departemen Gizi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bali, Indonesia.

Email: wy_weta@unud.ac.id

³Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah, Bali, Indonesia.

Email: iinindrayani1975@gmail.com

Abstrak

Latar belakang. Astaxanthin merupakan antioksidan kuat yang ditengarai mampu menghambat patogenesis penyakit perlemakan hati non- alkoholik.

Tujuan penelitian. Mengetahui pengaruh pemberian astaxanthin dalam menghambat perlemakan hati (steatosis) dan kadar serum *Gamma-Glutamyltransferase* (GGT) pada tikus wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

Metodologi. Studi eksperimental dengan *Post-test Only Control Group Design* dilakukan pada 36 ekor tikus Wistar jantan berusia 3.5-4 bulan dengan berat badan 200-210 gram yang dibagi menjadi 2 kelompok secara random. Kelompok kontrol diberi 0,42 ml minyak jelantah dan 0,5 ml akuades, sementara kelompok perlakuan diberi 0,42 ml minyak jelantah dan 0,2 mg astaxanthin per hari. Kedua intervensi dilaksanakan selama 14 hari. Pada hari ke- 15, pemeriksaan darah dan histopatologi hepar dilakukan untuk memeriksa kadar serum GGT dan steatosis. Uji komparasi dilakukan untuk membandingkan hasil kelompok kontrol dan perlakuan

Hasil penelitian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata steatosis ($31,64 \pm 10,77$ %) dan kadar serum GGT ($46,12 \pm 3,77$ U/L) pada kelompok perlakuan lebih rendah secara bermakna dibandingkan dengan rerata steatosis ($39,53 \pm 4,70$ %) dan kadar serum GGT ($57,82 \pm 6,45$ U/L) pada kelompok kontrol, dengan masing- masing nilai $p= 0,011$ dan $p<0,001$.

Kesimpulan. pemberian astaxanthin dapat menghambat perlemakan hati (steatosis) dan peningkatan kadar serum GGT pada tikus wistar jantan yang diberi minyak jelantah.

kata kunci : astaxanthin, gamma-glutamyltransferase, minyak jelantah, perlemakan hati

Abstract

Background. Astaxanthin is a powerful antioxidant that may be able to inhibit the pathogenesis of non- alcoholic fatty liver disease

Research objectives. Determining the effect of astaxanthin in inhibiting liver steatosis and the increase of *Gamma-glutamyltransferase* (GGT) serum level in male Wistar rats fed with overused cooking oil.

Methodology. Post-test Only Control Group Study Design was conducted on 36 male Wistar rats aged 3.5-4 months with bodyweight of 200-210 grams divided randomly into 2 groups. The control group was fed with 0.42 ml of overused cooking oil and 0.5 ml of distilled water. The treatment group was fed with 0.42 ml of overused cooking oil and supplemented with 0.2 mg of astaxanthin per day. Interventions were conducted for 14 days. On day 15th, rats' blood was taken to measure GGT serum level and hepatic histopathology examination was performed for steatosis counting. The comparative test was conducted to compare the results on both groups.

Research results. The results showed that the mean steatosis ($31,64 \pm 10,77$ %) and GGT levels ($46,12 \pm 3,77$ U/L) in the treatment group were significantly lower than the mean steatosis ($39,53$

$\pm 4,70$ %) and GGT levels ($57,82 \pm 6,45$ U/L) in the control group, with $p=0,011$ and $p<0,001$ respectively.

Conclusion. Astaxanthin supplementation inhibited liver steatosis and the increase of GGT serum levels in male Wistar rats fed with overused cooking oil.

Keywords : astaxanthin, fatty liver, gamma-glutamyltransferase, overused cooking oil

Pendahuluan

Sebagian besar (90%) rumah tangga di Indonesia memiliki kebiasaan untuk menggoreng berkali-kali sebanyak 4 hingga 8 kali setiap harinya.^{1,2} Makanan yang dipersiapkan menggunakan minyak yang dipakai berulang-ulang dalam suhu tinggi, akan mengakibatkan berbagai reaksi degradasi seperti hidrolisis, oksidasi, dan polimerisasi termal.^{3,4} Selama proses ini, kejenuhan asam lemak dari minyak meningkat dan dekomposisi asam lemak terjadi lebih cepat. Pada batas tertentu minyak menjadi tidak layak pakai dan dikenal dengan istilah minyak jelantah.⁵

Penggunaan minyak jelantah tidak hanya mengubah rasa, kandungan gizi dan tekstur makanan yang dihasilkan, tetapi juga dapat mengakselerasi terjadinya proses penuaan.⁶ Laju proses penuaan dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti ketidakseimbangan komposisi antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh, pola hidup kurang baik, diet yang tidak sehat, stres serta kemiskinan.⁷ Minyak jelantah merupakan salah satu sumber radikal bebas yang akan memicu terjadinya peroksidasi lipid dan stres oksidatif, dimana akhirnya

dapat menimbulkan kerusakan dan kematian sel serta memicu terjadinya inflamasi, aterosklerosis, penyakit degeneratif, serta penyakit kronis seperti kanker.^{6,8} Akumulasi lemak jenuh akan meningkatkan transpor asam lemak dari lapisan viseral ke hepar melalui jalur vena porta. Asam lemak bebas dalam jumlah berlebih juga dapat mengganggu fungsi mitokondria dan oksidasi asam lemak, sehingga lemak akan terakumulasi pada sel hati.⁹ Akumulasi lemak yang terjadi berkepanjangan akan menyebabkan suatu penyakit yang dikenal sebagai penyakit Perlemakan Hati Non-Alkoholik (PPNA) atau *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD).¹⁰

NAFLD telah menjadi masalah kesehatan global. Di akhir tahun 2015, perkiraan insidensi global NAFLD mencapai 25,24%, yang berarti lebih dari 1 milyar orang di seluruh dunia menderita NAFLD.¹¹ Prevalensi NAFLD di wilayah perkotaan Indonesia diperkirakan berkisar pada 30%.¹² Penetapan diagnosis NAFLD dilakukan dengan melihat adanya infiltrasi lemak (steatosis) pada lebih dari 5% hepatosit tanpa adanya riwayat konsumsi

alkohol berlebihan.¹³ Serum GGT (*Gamma- glutamyltransferase*) merupakan *marker* yang sensitif untuk mendeteksi NAFLD. Koenig dan Seneff juga menunjukkan bahwa peningkatan GGT berkaitan dengan stres oksidatif dan inflamasi, yang merupakan faktor- faktor yang terlibat dalam perkembangan NAFLD.¹⁴

Sampai saat ini, terapi yang direkomendasikan untuk NAFLD meliputi penurunan berat badan melalui pengaturan nutrisi serta aktifitas fisik. Belum ada terapi farmakologis yang disetujui dalam pengobatan NAFLD karena ditemukan berbagai efek samping penggunaan jangka panjang serta kurangnya hasil akhir yang bermakna. Intervensi lainnya direkomendasikan untuk menargetkan jalur yang terlibat dalam patogenesis NAFLD seperti stres oksidatif.^{15,16}

Astaxanthin merupakan antioksidan dari golongan karotenoid yang berperan dalam menghambat NAFLD dengan memperbaiki resistensi insulin, sehingga mencegah lipolisis di jaringan adiposa dan transpor asam lemak ke hepar. Astaxanthin juga mampu menurunkan ekspresi gen- gen lipogenik, menghambat produksi sitokin pro-inflamasi, melindungi tubuh terhadap proses peroksidasi lipid dan kerusakan yang diakibatkan oleh stres oksidatif serta mampu

meningkatkan level *glutathione* dan *superoxide dismutase* sebagai antioksidan internal pada hewan coba.¹⁷⁻¹⁹ Astaxanthin memiliki kapasitas antioksidan 10 kali lebih besar daripada karotenoid lain sehingga bermanfaat dalam menangkal radikal bebas dari berbagai sumber.²⁰ Manfaat yang didapatkan dari astaxanthin diharapkan mampu meningkatkan kondisi kesehatan secara keseluruhan melalui berbagai mekanisme kerjanya.

Selain melalui perubahan gaya hidup dan pengaturan nutrisi seimbang, diperlukan tambahan intervensi untuk menghambat perkembangan NAFLD, mengingat tingginya prevalensi NAFLD dan asosiasinya dengan penyakit kardiovaskular.¹⁵ Tidak seperti obat- obatan yang berpotensi menimbulkan efek samping dalam penggunaan jangka panjang, belum ditemukan efek samping dari konsumsi astaxanthin dalam dosis besar dan jangka waktu lama.²¹ Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui manfaat astaxanthin dalam menghambat terjadinya NAFLD akibat paparan minyak jelantah.

Bahan dan Metode

Studi eksperimental menggunakan *post- test only control group design* dilakukan pada populasi tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang sesuai. Tikus Wistar

jantan berusia 3.5-4 bulan dengan berat badan 200-210gram yang aktif dan sehat merupakan kriteria inklusi subjek penelitian. Sebanyak 36 ekor tikus Wistar dibagi menjadi dua kelompok seimbang yaitu kelompok perlakuan dan kontrol. Tikus dipelihara dalam kandang berupa bak plastik berukuran 30x40x20 cm dengan penutup kawat pada bagian atas, di dalam kandang terdapat tempat makanan dan botol minuman, serta pada dasar bak diberikan sekam padi untuk menyerap kotoran tikus. Tikus ditempatkan pada siklus cahaya 12 jam gelap: 12 jam terang. Tikus terlebih dahulu diadaptasi selama 7 hari di lokasi penelitian sebelum diberikan perlakuan. Selama proses adaptasi maupun perlakuan tikus tetap diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Makanan yang diberikan adalah standar diet pellet BR-1A, 10 gram/100 gram BB tikus/ hari dengan standar kadar protein 20- 25%, lemak 5%, karbohidrat 40-45%, serat kasar kira- kira 5%, abu 4-5%. Kebersihan dan kenyamanan kandang selalu dijaga dan tikus diperlakukan dengan baik.

Kelompok perlakuan, diberikan astaxanthin yang didapat dari sediaan berbentuk kapsul berisi serbuk dengan kandungan *real* astaxanthin, sebanyak 0,2 mg/200 gram BB yang dilarutkan dalam akuades hingga 0,5 ml. Astaxanthin diberikan 15 menit setelah pemberian

minyak jelantah, per oral melalui sonde, sekali sehari selama 14 hari. Kelompok kontrol, diberikan akuades 0,5 ml, 15 menit setelah pemberian minyak jelantah, per oral melalui sonde, sekali sehari selama 14 hari.

Minyak jelantah didapatkan dari minyak kelapa sawit yang digunakan untuk menggoreng tahu pada suhu 150° C selama 8 menit, diulang sebanyak 6 kali. Dosis yang dapat menyebabkan kerusakan hepatosit pada tikus adalah 0,42 ml/ 200gr BB tikus Wistar. Dosis astaxanthin yang digunakan yaitu 0,2 mg/200gramBB tikus wistar/ hari.

Pada hari ke-15, hewan coba dibedah dan diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan terhadap organ hati dan kadar serum GGT. Tikus di euthanasia dengan dosis Ketamin- Xylazine berlebih, yaitu Ketamin 10% 150mg/kgBB dan Xylazine 2% 30mg/ kgBB secara intraperitoneal. Pengambilan darah tikus dilakukan dengan menggunakan tabung mikrokapiler melalui *medial canthus sinus orbitalis*. Darah diambil sebanyak 1 mL dan pemilihan sampel organ hati diambil dari dua lobus terbesar. Ukuran hati yang diambil disesuaikan dengan penelitian sebelumnya dan dibuat preparat sesuai metode histologi baku menggunakan pengecatan *Haematoxilin Eosin*.²² Steatosis dinilai dari jumlah hepatosit yang sitoplasmanya berisi vakuola lemak.

Steatosis dihitung dari tiga lapang pandang pada pembesaran 400x. Hepatosit yang ditemukan pada ketiga lapang pandang juga dijumlahkan. Kemudian total steatosis dibagi dengan total hepatosit dan dikalikan 100% untuk mendapatkan persentase steatosis. Kadar GGT dinilai dari serum darah tikus dengan alat Cobas 6000 metode standar IFCC.

Analisis data penelitian diuji menggunakan uji komparasi *t-independent* dengan SPSS 23 (IBM, Statistics). Seluruh prosedur penelitian telah disetujui oleh komisi etik Universitas Udayana, NO.1601/UN14.2.2.VII.14/LT/2020.

Hasil Penelitian

Pada penelitian ini, terjadi *drop-out* sebanyak 2 ekor tikus, masing-masing 1 dari setiap kelompok yang disebabkan karena tikus mati pada saat penelitian berjalan, sehingga analisa data dilakukan pada 17 ekor tikus dari masing-masing kelompok.

Analisis menggunakan uji komparasi *t-independent* dilakukan untuk membandingkan steatosis dan kadar GGT antar kelompok, yang ditampilkan pada tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar GGT pada kelompok perlakuan ($46,12 \pm 3,77$ U/L) lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol

($57,82 \pm 6,45$ U/L) ($p < 0,001$). Demikian juga, rerata steatosis pada kelompok perlakuan ($31,64 \pm 10,77$ %) dibandingkan dengan kelompok kontrol ($39,53 \pm 4,70$ %) ($p = 0,011$). Pada gambar 1, dapat terlihat gambaran steatosis, baik makrosteatosis maupun mikrosteatosis lebih banyak ditemukan pada kelompok kontrol dibanding kelompok perlakuan. Sedangkan nampak lebih banyak gambaran hepatosit normal pada kelompok perlakuan.

Hal ini mengindikasikan efek positif dari Astaxanthin dalam menghambat perlemakan hati dan peningkatan kadar serum *Gamma-Glutamyltransferase* (GGT).

Pembahasan

Pada penelitian ini, setelah 14 hari hewan coba diberikan minyak jelantah didapatkan rerata steatosis 39,53% pada kelompok kontrol dan 31,64% pada kelompok perlakuan. Hasil pemeriksaan secara makroskopis juga menunjukkan adanya pita lemak pada seluruh sampel dari kelompok kontrol (17 sampel) sementara pada kelompok perlakuan hanya ditemukan pada 11 sampel. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa pemberian minyak jelantah selama 14 hari dapat menyebabkan peningkatan steatosis. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, dimana ditemukan peningkatan steatosis dan enzim hati pada

tikus yang diberikan minyak jelantah selama 14 hari.²³ Kualitas minyak goreng yang digunakan akan mempengaruhi tingkat penyerapan minyak. Pada penggorengan berulang, polaritas minyak akan meningkat dibandingkan dengan pada minyak baru.²⁴ Penggorengan minyak pada suhu tinggi juga menyebabkan peningkatan kadar asam lemak jenuh. Akumulasinya yang berlebihan dalam tubuh akan meningkatkan transpor *Free Fatty Acid* (FFA) dari lapisan viseral ke hepar. Kadar FFA yang berlebih juga akan mengakibatkan turunnya oksidasi asam lemak di mitokondria, yang semuanya berperan dalam terjadinya NAFLD.²⁵

Analisis kemaknaan rerata steatosis menunjukkan bahwa kelompok yang diberi astaxanthin memiliki rerata persentase steatosis yang signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hasil penelitian ini sejalan dengan berbagai teori dan penelitian sebelumnya yang menjelaskan peranan astaxanthin dalam berbagai patogenesis NAFLD. Astaxanthin, diketahui memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi. Ganggang hijau *Haematococcus pluvialis* sampai saat ini merupakan satu-satunya spesies yang dapat mensintesis dan mengakumulasi astaxanthin dalam jumlah tinggi. Astaxanthin diketahui mampu memperbaiki resistensi insulin sehingga dapat mencegah lipolisis di

jaringan adiposa.¹⁷ Liu *et al.*, (2014) juga menunjukkan bahwa astaxanthin mampu mengakselerasi pemanfaatan lipid melalui aktivasi metabolisme aerobik di mitokondria sehingga mengurangi pelepasan FFA dari jaringan adiposa dan mencegah terjadinya peningkatan transport asam lemak ke hepatosit.²⁶ Penelitian Jia *et al.*, (2016) mengemukakan bahwa astaxanthin menurunkan ekspresi gen-gen regulator lipogenesis seperti SREBP-1, sehingga mencegah terjadinya lipogenesis *de novo* di hepar serta mampu meningkatkan ekspresi PPAR- α yang kemudian dapat merangsang jalur sintesis asam empedu dan menyebabkan penurunan akumulasi lipid hepatic.^{27,28}

Analisis kemaknaan rerata kadar serum GGT juga menunjukkan bahwa kelompok yang diberi astaxanthin memiliki rerata kadar GGT yang signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan adanya korelasi negatif antara GGT dan *Gluthation Peroxidase* (GPx), enzim yang berfungsi untuk mencegah terjadinya kerusakan akibat stres oksidatif. GGT juga akan diinduksi saat glutation intraseluler berkurang.²⁹ Kadar GGT lebih rendah yang ditemukan pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa astaxanthin mampu meningkatkan

kadar glutathion sebagai antioksidan internal, sehingga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif.¹⁸

Penalaksanaan NAFLD meliputi empat area besar, yaitu modifikasi gaya hidup, penanganan komponen dari sindroma metabolik, farmakoterapi untuk pasien dengan risiko tinggi, dan manajemen komplikasi sirosis. Intervensi gaya hidup dengan tujuan pengurangan berat badan melalui perbaikan pola diet dan aktifitas fisik adalah kunci utama penanganan pasien dengan NAFLD.³⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Weta, *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa pemberian PUFA rasio 2:1 n-6:n-3 pada wanita obesitas yang dikombinasikan dengan aktifitas fisik selama 12 minggu mampu mengurangi steatosis, komposisi lemak tubuh dan level serum TNF- α .³¹ Sampai saat ini, belum ada konsensus mengenai terapi farmakologis yang efektif karena detail patofisiologi NAFLD belum dimengerti sepenuhnya. Intervensi pada perbaikan gaya hidup juga memiliki tingkat kepatuhan yang rendah. Karena itu, kemungkinan diperlukan suplementasi yang mampu bekerja pada tahapan-tahapan terjadinya NAFLD seperti berbagai macam jenis mikronutrien ataupun antioksidan sebagai kombinasi maupun alternatif tatalaksana. Aktifitas astaxanthin dalam menghambat produksi sitokin pro-

inflamasi seperti TNF- α mampu mencegah terjadinya lipolisis di jaringan adiposa dan juga meningkatkan sensitivitas insulin, sehingga mencegah akumulasi lipid di hepar.³² Astaxanthin juga mampu melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif melalui fungsi antioksidan sehingga dapat menetralkan singlet oksigen dan menghambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* yang kemudian akan mencegah terjadinya fase lanjut NAFLD.³³

Walau didapatkan hasil yang bermakna pada kelompok perlakuan, penelitian ini masih memiliki kekurangan, yaitu tidak adanya kontrol negatif yang menyebabkan kurangnya informasi mengenai keadaan normal sebagai perbandingan hasil. Namun, pengaruh positif astaxanthin terhadap berbagai macam kondisi yang dapat mencetuskan timbulnya suatu penyakit diharapkan dapat digunakan untuk mencegah berbagai penyakit yang berkaitan dengan proses penuaan sehingga prinsip *anti-aging medicine*, yaitu agar usia harapan hidup menjadi lebih panjang dan tetap dalam keadaan sehat dapat tercapai.

Kesimpulan dan Saran

Suplementasi astaxanthin selama 14 hari menghambat perlemakan hati dan mencegah peningkatan kadar serum GGT pada tikus Wistar jantan yang diberi minyak

jelantah. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah akan didapatkan efek yang serupa pada manusia.

Ucapan Terima Kasih

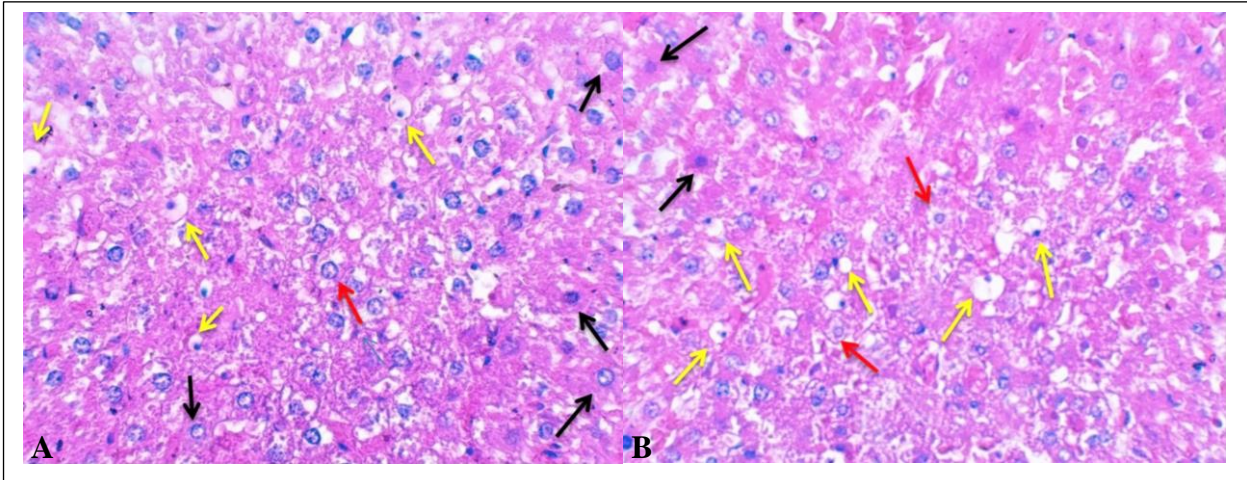
Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada dr. I Gusti Kamasan Nyoman Arijana, M. Si dan seluruh staf Departemen Histologi, FK Universitas Udayana, Bali atas bantuannya dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Siswanto W, Mulasari SA. Pengaruh frekuensi penggorengan terhadap peningkatan peroksida minyak goreng curah dan fortifikasi vitamin A. *J Kesehat Masy* 2015; 9: 1–10.
2. Mulasari SA, Siswanto W. Pengaruh Frekuensi Penggorengan terhadap Peningkatan Peroksida Minyak Goreng Curah dan Fortifikasi Vitamin A. *Kes Mas J Fak Kesehat Masy Univ Ahmad Daulan*; 9: 25020.
3. Fransiska E. Karakteristik, Pengetahuan, Sikap dan Tindakan Ibu Rumah Tangga Tentang Penggunaan Minyak Goreng Berulang Kali di Desa Tanjung Selamat Kecamatan Sunggal Tahun 2010.
4. Wahab AW, Dewang S, Armynah B, et al. Analisis Spektrum Infra Merah Dari Minyak Goreng Kelapa Untuk Identifikasi Perubahan Panjang Gelombang Akibat Variasi Temperatur. *UNHAS Makasar*.
5. Lestari PP. *Pemanfaatan Minyak Goreng Jelantah Pada Pembuatan Sabun Cuci Piring*. Universitas Sumatera Utara. PhD Thesis, tesis, 2010.
6. Aisyah S, Budiman H, Aliza D, et al. Efek Pemberian Minyak Jelantah Terhadap Gambaran Histopatologis Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *J Med Vet*; 9.
7. Pangkahila W. Tetap Muda, Sehat dan Berkualitas: Konsep Anti-Aging Medicine. *Jkt Kompas Media Nusant*.
8. Khaira K. Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-oksidan. *Sainstek J Sains Dan Teknol* 2016; 2: 183–187.
9. Astari NA, Decroli E, Yerizel E. Gambaran NAFLD pada Pasien dengan Sindrom Metabolik di Poliklinik Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang. *J Kesehat Andalas*; 4.
10. Kelishadi R, Farajian S, Mirlohi M. Probiotics as a novel treatment for non-alcoholic Fatty liver disease; a systematic review on the current evidences. *Hepat Mon*; 13.
11. Chowdhury A, Younossi ZM. Global epidemiology and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease. In: *Alcoholic and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*. Springer, 2016, pp. 21–40.
12. Medina S, Wibudi A, Sandra O. Hubungan Obesitas Sentral Dengan Gambaran *Fatty Liver* Pada USG Abdomen Di Poliklinik Bank Indonesia Bulan Agustus-September 2017. *YARSI Medical Journal*. 2018;26(3):139-51.
13. Amarpurkar D. NAFLD current concepts. *Int J Hepatol* 2010; 1: 45–49.
14. Koenig G, Seneff S. Gamma-glutamyltransferase: a predictive biomarker of cellular antioxidant inadequacy and disease risk. *Dis Markers*; 2015.
15. Patil R, Sood GK. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2017; 8: 51.
16. Duric M, Sivanesan S, Bakovic M. Phosphatidylcholine functional foods and nutraceuticals: A potential approach to prevent non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Lipid Sci Technol* 2012; 114: 389–398.
17. Ni Y, Nagashimada M, Zhuge F, et al. Astaxanthin prevents and reverses diet-induced insulin resistance and steatohepatitis in mice: A comparison with vitamin E. *Sci Rep* 2015; 5: 17192.
18. Halim A, Handini M, Armyanti I, et al. The Effect of Astaxanthin on Glutathione Levels in Damaged Liver Tissues of Male Wistar Rats Induced By Oral Formaldehyde. *KnE Life Sci* 2019; 147–154.
19. Hormozi M, Ghoreishi S, Baharvand P. Astaxanthin induces apoptosis and



- increases activity of antioxidant enzymes in LS-180 cells. *Artif Cells Nanomedicine Biotechnol* 2019; 47: 891–895.
20. Klein EA, Thompson I, Tangen CM, et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: Updated results of the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *J Clin Oncol* 2012; 30: 7.
 21. Katsumata T, Ishibashi T, Kyle D. A sub-chronic toxicity evaluation of a natural astaxanthin-rich carotenoid extract of *Paracoccus carotinifaciens* in rats. *Toxicol Rep* 2014; 1: 582–588.
 22. Makiyah A, Khumaisah LL. Studi Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih Strain Wistar yang Diinduksi Aspirin Pascapemberian Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) Selama 7 Hari. *Maj Kedokt Bdg* 2018; 50: 93–101.
 23. Pemberian Alpha Lipoic Acid Oral Menghambat Peningkatan Jumlah Steatosis dan Kadar ALT Pada Tikus Wistar yang Diberi Minyak Jelantah - PDF Free Download. *adoc.pub*, <https://adoc.pub/pemberian-lpha-lipoic-acid-oral-menghambat-peningkatan-jumla.html> (accessed 17 November 2020).
 24. Ghidurus M, Turtoi M, Boskou G, et al. Nutritional and health aspects related to frying (I). *Romanian Biotechnol Lett* 2010; 15: 5675–5682.
 25. Kaban K. Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn) Menurunkan Penyakit Perlemakan Hati Non-alkoholik. *BIOLINK J Biol Lingkung Ind Kesehat* 2019; 5: 123–130.
 26. Liu PH, Aoi W, Takami M, et al. The astaxanthin-induced improvement in lipid metabolism during exercise is mediated by a PGC-1 α increase in skeletal muscle. *J Clin Biochem Nutr* 2014; 13–110.
 27. Jia Y, Wu C, Kim J, et al. Astaxanthin reduces hepatic lipid accumulations in high-fat-fed C57BL/6J mice via activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and inhibition of PPAR gamma and Akt. *J Nutr Biochem* 2016; 28: 9–18.
 28. Liss KHH, Finck BN. PPARs and nonalcoholic fatty liver disease. *Biochimie* 2017; 136: 65–74.
 29. Gunawan S, Santoso A, Wijaya A. The Correlation of Gamma-Glutamyl Transferase (γ -GT), Glutathione Peroxidase (GPx) and Total Antioxidant Status (TAS) with Inflammatory Marker in Individuals with Metabolic Syndrome. *Indones Biomed J* 2011; 3: 57–63.
 30. Dyson JK, Anstee QM, McPherson S. Non- alcoholic fatty liver disease: a practical approach to diagnosis and staging. *Frontline Gastroenterol* 2014; 5: 211–218.
 31. Weta IW, Sutirtayasa WP, Sucipta WC, et al. Supplementation of Low Ratio n-6:n-3 PUFA Reduces Body Fatness in Young Obese Balinese Women: A Randomized Study with Optimized Energy Regulation. *Curr Res Nutr Food Sci J* 2020; 8: 584–595.
 32. Priyadarshini L, Aggarwal A. Astaxanthin inhibits cytokines production and inflammatory gene expression by suppressing I κ B kinase-dependent nuclear factor κ B activation in pre and postpartum Murrah buffaloes during different seasons. *Veterinary world*. 2018 Jun;11(6):782.
 33. Kim SH, Kim H. Inhibitory effect of astaxanthin on oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction-a mini-review. *Nutrients*. 2018 Sep;10(9):1137.



Gambar 1. (A) Kelompok Perlakuan. (B) Kelompok Kontrol. (Objektif 400X). Panah hitam menunjukkan hepatosit normal, panah merah menunjukkan mikrosteatosis dan panah kuning menunjukkan makrosteatosis.

Tabel 1. Perbandingan steatosis dan kadar serum GGT antar kelompok

Variabel	Kelompok (Rerata±SB)		<i>p</i>
	Kontrol (n= 17)	Perlakuan (n=17)	
Steatosis (%)	39,53±4,70	31,64±10,77	0,011*
GGT(U/L)	57,82±6,45	46,12±3,77	<0,001*

n= jumlah sampel; *p*= nilai kemaknaan